

**Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(ehem. Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Bruno Reichart
komm. Leiter Prof. Dr. med. Christoph Schmitz)**

**Perfadex versus HTK-Bretschneidersche Lösung:
ein Vergleich bezüglich peri-und postoperativer myo-
kardialer Ischämie, inflammatorischer Wirkung, Leu-
kozytenadhäsion, sowie Venenfibroelastose
beim Einsatz als Präservationslösung bei der aorto-
koronaren Bypassoperation**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München**

**vorgelegt von
Manuel Kronschnabl
aus Zwiesel
im Jahr 2011**

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. B. Reichart

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. C. Von Schacky
Prof. Dr. med. W.-M. Franz

Betreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Frau PD Dr. med. S. Eifert

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.2011

Inhaltsverzeichnis

<u>1. Einleitung.....</u>	<u>4</u>
<u>1.1 Grundlagen aortokoronarer Bypassoperationen.....</u>	<u>4</u>
<u>1.2 Pathophysiologische Veränderungen venöser Bypassgrafts nach erfolgter koronarer Revaskularisation.....</u>	<u>10</u>
<u>1.3 Konservierung venöser Bypassgrafts.....</u>	<u>13</u>
<u>1.4 Ischämie und Reperfusion</u>	<u>15</u>
<u>1.5 Studienziele.....</u>	<u>18</u>
<u>2. Patienten und Methodik.....</u>	<u>19</u>
<u>2.1 Studiendesign und -ablauf.....</u>	<u>19</u>
<u>2.2. Charakterisierung der Studienpatienten.....</u>	<u>21</u>
<u>2.3 Verwendete Agentien.....</u>	<u>24</u>
2.3.1 Perfadexlösung.....	24
2.3.2 HTK-Bretschneider'sche Lösung.....	25
<u>2.4 Bestimmung der Serumparameter.....</u>	<u>26</u>
2.4.1 Bestimmung der Myokardmarker.....	26
2.4.2 Bestimmung von Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha.....	27
2.4.3 Bestimmung der monoklonalen Antikörper IB4 und D200.....	27
<u>2.5 Statistische Methoden.....</u>	<u>28</u>
<u>3. Ergebnisse.....</u>	<u>29</u>
<u>3.1 Analyse der Myokardmarker.....</u>	<u>29</u>
3.1.1 Analyse der Kreatinkinase (CK).....	29
3.1.2 Analyse der Kreatinkinase-Untereinheit MB (CK-MB).....	31
3.1.3 Analyse der Kreatinkinase-Masse (CK-Masse).....	32
3.1.4 Analyse des Troponin I (TropI).....	33
<u>3.2 Analyse der Entzündungsmediatoren.....</u>	<u>34</u>
3.2.1 Analyse des Interleukin-6 (IL-6).....	34
3.2.2 Analyse des Tumor-Nekrose-Faktors-alpha (TNFa).....	36
<u>3.3 Analyse der Leukozytenadhäsionsmarker.....</u>	<u>38</u>
3.3.1 Analyse des monoklonalen Antikörpers IB4.....	38
3.3.2 Analyse des monoklonalen Antikörpers D200.....	40
<u>3.4 Analyse von extrakorporaler Bypasszeit, aortaler Abklemmzeit, Lagerzeit der Venenbypässe und des Auftretens einer Venenfibroelastose.....</u>	<u>42</u>
<u>4. Diskussion.....</u>	<u>46</u>
<u>5. Zusammenfassung.....</u>	<u>50</u>
<u>6. Literaturverzeichnis.....</u>	<u>52</u>
<u>7. Abbildungsverzeichnis.....</u>	<u>73</u>
<u>8. Tabellenverzeichnis.....</u>	<u>74</u>
<u>9. Danksagung.....</u>	<u>75</u>

1. Einleitung

1.1 Grundlagen aortokoronarer Bypassoperationen

In der Bundesrepublik Deutschland ist die koronare Herzerkrankung (KHK) und deren Komplikationen die häufigste Todesursache. Im Jahre 2004 beruhten in Deutschland knapp 50% der Todesfälle auf Krankheiten des Kreislaufsystems, wobei rund 17% aller Todesfälle auf einen Myokardinfarkt zurückzuführen waren (Angaben des Statistischen Bundesamtes, 2009).

Die Anzahl der durchgeführten aortokoronaren Bypassoperationen stieg, von anfänglich knapp 10.000 Eingriffen im Jahre 1984, auf knapp 66.000 im Jahre 2000 und lag im Jahre 2009 bei etwa 70.000 Operationen (Bruckenberg E, Herzbericht 2001; Bruckenberg E, Herzbericht 2009).

Wesentlich für die Entstehung einer KHK ist die Bildung atherosklerotischer Plaques in den Herzkranzgefäßen, sowie deren Ruptur mit anschließender Thrombenbildung. Eine Plaqueruptur kann sich, klinisch betrachtet, als Myokardinfarkt manifestieren (Fitzgibbon et al., 1996).

Entsprechend der Querschnittsverminderung (in %) unterscheidet man 4 Schweregrade der Koronarstenosen:

Grad I	25 - 49%
Grad II	50 - 74% (signifikante Stenose)
Grad III	75 - 99% (kritische Stenose)
Grad IV	100% (kompletter Verschluss)

Regionale Perfusionsstörungen des Myokards sind erst zu erwarten, wenn >50% des Gefäßlumens eingeengt sind. Im Rahmen einer chronischen Obstruktion kann die Ausbildung von Kollateralgefäßen diese Perfusionsstörungen entsprechend verbessern. Sind >75% des Gefäßvolumens eingeengt (kritische Stenose), so resultiert bei Fehlen von kompensatorisch wirkenden Kollateralen eine belastungsabhängige Angina pectoris (Fuster et al., 1985). Eine Vielzahl von Studien konnte jedoch beweisen, dass die stumme

Ischämie ("silent ischemia") die am häufigsten vorkommende Manifestation einer koronaren Herzerkrankung darstellt (Deedwania et Carbajal, 1991). Die stumme Ischämie wird dabei als das objektive Vorliegen von myokardialer Ischämie in der Abwesenheit von pectorinösen Beschwerden bezeichnet. 25 bis 45 Prozent aller Patienten mit akuten und chronisch ischämischen Syndromen wiesen Charakteristika einer Myokardischämie im Alltag auf. Die Mehrheit dieser ischämischen Episoden ging dabei nicht mit typischen Angina pectoris Beschwerden oder Äquivalenten einher (Gottlieb et al., 1986; Gottlieb et al., 1988; Tzivoni et al., 1988). Insbesondere Diabetiker, ältere Patienten und Patienten, die einen früheren Herzinfarkt erlitten haben, sind von dieser Ischämieform betroffen (Deedwania et Carbajal, 1991).

Pathophysiologisch liegt der koronaren Herzkrankheit eine endotheliale Dysfunktion zugrunde. Ist die Endothelfunktion gestört, kommt es auf der einen Seite zu einer Einschwemmung von LDL-Cholesterin in die Intima und auf der anderen Seite zu einer Einwanderung von Monozyten- verursacht durch einer vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen. Die Monozyten wandeln sich in der Intima zu Makrophagen um, die über LDL-Rezeptoren Cholesterin aufnehmen. Das Cholesterin kann zusammen mit ApoE sezerniert werden. Es wird an "high density"-Lipoproteine (HDL) im Plasma gebunden und gelangt mit diesen Lipoproteinpartikeln in die Leber, wo es verstoffwechselt wird. Dieser sogenannte reverse Cholesterintransport stellt einen Schutzmechanismus vor einer Atherosklerose dar. Bei einem Überangebot an Cholesterin werden die Makrophagen zu Schaumzellen umgewandelt. Die Makrophagen sezernieren u.a. Interleukin-1 und den Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- α). Ein weiterer Mechanismus ist die Adhäsion von Thrombozyten. Der von Thrombozyten und auch von Makrophagen sezernierte "platelet derived growth factor" (PDGF) regt die glatten Muskelzellen zur Proliferation an. Sie wandeln sich um, bilden u.a. Kollagen, Elastin und Proteoglykane und führen somit zu einem bindegewebigen Umbau. Die Matrix kann sekundär verkalken.

Im Mittelpunkt der Behandlung einer KHK steht eine Anzahl von Therapiezielen, die von der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-, Herz- und Kreislaufforschung (DGK) wie folgt formuliert wurden:

„Reduktion der kardiovaskulären Morbidität, insbesondere Vermeidung von Herzinfarkten und Entwicklung der Herzinsuffizienz.“ - „Erhalt und Verbesserung der Lebensqualität durch Vermeidung von Angina pectoris-Beschwerden und Erhaltung der Belastungsfähigkeit.“ - „Reduktion der Sterblichkeit.“ (Grondin et al., 1984; American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics. 2008 Update).

Die aortokoronare Bypassoperation ist die am häufigsten durchgeführte Operation der westlichen Welt (Howson et al., 1998). Ein entscheidender Fortschritt in der Behandlung der KHK ergab sich 1967, als Garrett und seine Mitarbeiter, sowie wenig später Favaloro erstmals Venenbypässe aus der Vena saphena zur Umgehung stenosierter Koronararterien einsetzten. In Deutschland werden jährlich ca. 70.000 koronare Bypassoperationen in über 70 Kliniken vorgenommen.

Als gesicherte Indikationen zur Durchführung eines solchen Eingriffes laut der Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung gelten (Dietz et Rauch, 2003):

- Hochgradige Stammstenose der linken Koronararterie
- Proximale Stenose des R. interventricularis anterior bei 3-Gefäß-Erkrankung
- Komplexe 3-Gefäß-Erkrankung und deutlich eingeschränkte linksventrikuläre Funktion

Die aortokoronare Bypassoperation (ACVB) kann mit oder ohne Zuhilfenahme der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) vorgenommen werden. Klassischerweise wird diese Operation mit Hilfe der EKZ durchgeführt. In Deutsch-

land werden ca. 94% aller ACVBs auf diese Weise ausgeführt. Im Rahmen der Operation unter Bedingungen der EKZ werden die koronaren Anastomosen nach Gabe einer kardioplegischen Lösung am nicht mehr schlagenden Herzen ausgeführt. Die Herz-Lungen-Maschine wird dabei an die Aorta ascendens und den rechten Vorhof angeschlossen. Die Myokardprotektion erfolgt in der Phase der Aortenabklemmung und Unterbrechung der Koronardurchblutung in Hypothermie (28-32°C) und Kardioplegie des Herzmuskels. Der Zugang erfolgt vorrangig über eine mediane Sternotomie.

Als Bypassgrafts kommen arterielle Gefäße wie die Aa. thoracicae internae beidseits, die A. radialis, bzw. gelegentlich die A. gastroepiploica in Frage. Des Weiteren stehen Venengrafts der V. saphena magna bzw. der Vena saphena parva zur Verfügung. Die Anastomosen werden End-zu-Seit oder Seit-zu-Seit an die längs eröffneten Koronararterien angenäht und die freien Grafts anschließend mit der Aorta ascendens verbunden. Nach Anlegen aller Anastomosen wird der Blutfluss wieder freigegeben. Bei leicht zugänglichen Koronararterien versucht man, die Revaskularisation ohne den Einsatz der Herz-Lungen-Maschine durchzuführen.

In neuerer Zeit hat man multiple Koronaranschlüsse minimal-invasiv ohne Einsatz der HLM über eine mediane Sternotomie durchgeführt. Zur Ruhigstellung der jeweiligen Anastomosenregionen bedient man sich flexibler Stabilisatoren (Kirklin et al., 1983).

Bei Venenbypässen liegt die Verschlussrate nach 10 Jahren bei ca. 20-30%, bedingt vor allem durch eine akzelerierte atherosklerotische Degeneration und Intimaproliferation (Christenson et Schmutziger, 1998). Arterielle Bypässe weisen hingegen nach demselben Zeitraum wesentlich höhere Offenheitsraten auf (Fabbrocini et al., 2003). Die Verwendung arterieller Gefäße entweder als komplette arterielle Revaskularisation oder in Kombination mit Venenbypässen hat daher in den letzten zwei Jahrzehnten zunehmend größere Verbreitung gefunden. Die am weitesten verbreitete Operationstechnik ist die

Anastomosierung der linken A. thoracica interna in situ auf den Ramus interventricularis anterior (Springer, 1990). Nach 10 Jahren sind noch über 90% der linksseitigen A.thoracica interna Bypässe offen (Seghaye et al., 1993; Schwann et al., 2009). Da die Bypass-Verschlussrate eng mit Morbidität und Mortalität korreliert, schlägt sich dies auch in einem deutlichen Überlebensvorteil nieder. Der Einsatz der linksseitigen A. thoracica interna gilt heute als Standard.

Die aortokoronare Bypassoperation kann mit relativ geringem operativem Risiko durchgeführt werden. Die 30-Tage-Mortalität bei unter 70-Jährigen beträgt durchschnittlich ein bis zwei Prozent, mit zunehmendem Alter steigt das Operationsrisiko leicht an. Alexander et al. fanden in einer großen Patientenkohorte mit mehr als 4000 Patienten im Alter über 80 Jahre eine Frühmortalität von 8,1 Prozent, in kleineren Studien variieren die Angaben zwischen vier und acht Prozent (Hannan et Burke, 1994; Morris et al., 1996; Akins et al., 1997; Ivanov et al., 1998; Craver et al., 1999; Alexander et al., 2000; Moon et al., 2001; Bakaeen et al., 2009). Die im Vergleich zu jüngeren Patienten erhöhte perioperative Mortalität und Morbidität wird durch bestehende oder durchgemachte Begleiterkrankungen, wie beispielsweise chronisch obstruktive Lungenerkrankung, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Niereninsuffizienz, begründet. Die Hospitalisationsdauer ist deshalb durchschnittlich um ein bis zwei Tage länger als bei jüngeren Patienten (Engoren et al., 2002; Barnett et al., 2003). Die mittel- bis langfristige Prognose nach aortokoronarer Bypassoperation ist allerdings gut. Die 5-Jahres-Überlebensraten variieren zwischen 56 bis 61 Prozent (Kirsch et al., 1998; Craver et al., 1999; Fruitman et al., 1999; APPROACH study, 2002). Das Überleben entspricht damit dem einer altersadjustierten Normalbevölkerung, einzelne Studien zeigen sogar einen Überlebensvorteil gegenüber der sogenannten „Normalbevölkerung“ desselben Alters (Collins et al., 2002). Unterschiedliche Operationstechniken sind dabei besonders von Bedeutung. Es gibt Hinweise, dass alte Patienten von der Bypassoperation ohne Herz-Lungen-Maschine besonders profitieren, vor allem in Bezug

auf die perioperative Schlaganfallrate (Al-Ruzzeh et al., 2001; Demaria et al., 2002; Beauford et al., 2003).

Kurlansky et al. wiesen nach, dass ältere Patienten nach der arteriellen Revaskularisation hinsichtlich der Symptomatik und dem funktionelle Status sowie der Lebensqualität besonders profitieren (Kurlansky et al., 2003). Interessanterweise zeigen einzelne Studien einen positiven, kausal unklaren Früheffekt gegenüber der Verwendung von Venenbypässen zur Revaskularisation der Vorderwand im Alter (Moon et al., 2001).

Die kardiologisch-herzchirurgische TIME-Studie ergab, dass über 75-jährige Patienten mit therapierefraktärer Angina pectoris (AP) vom invasiven Vorgehen (aortokoronare Bypassoperation oder perkutane Koronarintervention) mehr profitieren als vom konservativen. Die Symptomatik und Lebensqualität der Patienten besserte sich rascher und die Rehospitalisationsrate war signifikant reduziert, woran die chirurgische Revaskularisation wesentlichen Anteil hatte (TIME trial, 2001; Pfisterer et al., 2003). Aus dem medikamentösen Studienarm wurden 42 Prozent im weiteren Verlauf einer invasiven Therapie zugeführt. Interessanterweise zeigten in der invasiv behandelten Gruppe primär operierte Patienten nach zwölf Monaten signifikant weniger AP-Beschwerden als primär koronardilatierte Patienten (Kaiser et al., 2004).

Die aortokoronare Bypassoperation hat einen positiven Einfluss auf den funktionellen Status, Symptomatik und Allgemeinzustand der operierten Patienten, besonders auch in höherem Alter (Diegeler et al., 1995; Olsson et al., 1996; Sundt et al., 2000; Goldsmith et al., 2001). Ältere Patienten profitieren in gleichem Maß wie jüngere von der Herzoperation, jedoch brauchen sie länger, um sich physisch und psychisch zu erholen (Olsson et al., 1996). White und Kollegen verglichen im Rahmen ihrer Studie an insgesamt 343 Patienten mit einer Hauptstammstenose der linken Koronararterie das Mortalitätsrisiko der aortokoronaren Bypassoperation mit dem der perkutanen ko-

ronaren Intervention. Sie berichteten, dass bezüglich des Mortalitätsrisikos kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsverfahren besteht (White et al., 2008). Serruys und Kollegen randomisierten im Rahmen ihrer SYNTAX Studie insgesamt 1800 Patienten mit unbehandelter 3-Gefäß-Erkrankung oder einer Hauptstammstenose der linken Koronararterie, einer aortokoronaren Bypassoperation oder einer perkutanen koronaren Intervention. Sie berichteten, dass bei der Durchführung der aortokoronaren Bypassoperation nach einem Zeitraum von 12 Monaten geringere Raten an kardialen und zerebrovaskulären Komplikationen beobachtet werden konnten (Serruys et al., 2009).

Tarantini und Kollegen berichteten von vergleichbaren Morbiditäts- und Mortalitätsraten zwischen der aortokoronaren Bypassoperation und der perkutanen koronaren Intervention bei Diabetikern mit 3-Gefäß-Erkrankungen (Tarantini et al., 2009). Die Patientenanzahl lag jedoch mit 220 Patienten deutlich unter der von Serruys und Kollegen. Die Studie von Tarantini widerspricht direkt der Studie von Javaid und Kollegen aus dem Jahre 2007, die insbesondere bei Diabetikern mit einer Mehrgefäßerkrankung von einer niedrigeren Komplikationsrate der aortokoronaren Bypassoperation im Vergleich mit der perkutanen koronaren Intervention berichtete (Javaid et al., 2007).

1.2 Pathophysiologische Veränderungen venöser Bypassgrafts nach erfolgter koronarer Revaskularisation

Die Verschlussrate von aortokoronaren Venenbypässen stellt einen wichtigen Faktor dar, den es im klinischen Kontext entsprechend zu berücksichtigen gilt. Nach einem Jahr beträgt die Wiederverschlussrate aortokoronarer Venenbypässe 15%, nach 10 Jahren sind 40% aller Venenbypässe verschlossen bei jährlichen Verschlussraten von 1 bis 2% vom zweiten bis sechsten Jahr bzw. 4% ab dem siebten Jahr (Motwani et Topol, 1998). Fitzgibbon und Kollegen berichteten im Rahmen von angiographischen Follow-

up-Untersuchungen an 5065 Venenbypässen bei 1388 Patienten über einen Zeitraum von insgesamt 25 Jahren von einer Offenheitsrate von 88% nach weniger als einem Jahr, 81% nach einem Jahr, 75% nach 5 Jahren, sowie 50% nach mehr als 15 Jahren bei einer jährlichen Venenbypassverschlussrate von 2,1% (Fitzgibbon et al., 1996).

Die Offenheitsrate von Arteria radialis Bypässen liegt, Studien zu Folge, nach 565 +/- 511 Tagen bei 90,3% (Khot et al., 2004).

Die pathophysiologischen Mechanismen, die dem Verschluss aortokoronarer Venenbypässe zu Grunde liegen, beziehen sich wie die Artherosklerose insbesondere auf die Endothelzellfunktion. Sie können nach Motwani und Topol in drei Hauptfunktionsweisen eingeteilt werden.

1. Thrombose venöser Bypassgrafts, die zu Venenverschlüssen im ersten Monat nach erfolgter Bypassoperation führt. Das Entstehen einer Venenthrombose erfolgt dabei nach den Virchowschen Triade: Gefäßwandveränderungen bzw. -verletzungen, Veränderungen der Blutrheologie bzw. veränderte Flußhämodynamik sowie Hyperkoagulabilität.

2. Gefäßintimahyperplasie, die durch Anhäufung von glatten Muskelzellen und Bestandteilen der extrazellulären Matrix in der Gefäßintima gekennzeichnet ist. Der Zeitraum für diesen pathophysiologischen Prozess beträgt zumeist einen Monat bis ein Jahr nach erfolgter Bypassimplantation.

3. Beschleunigte Atherosklerose des Venenbypasses (Motwani et Topol, 1998).

Als Risikofaktoren bezüglich des Verschlusses aortokoronarer Venenbypässe sind nach uni- und multivariaten Untersuchungen an 780 Patienten über

einen Zeitraum von fünf Jahren im Rahmen der CASS Studie Diabetes mellitus, die Lokalisation der Gefäßläsion, Hypercholesterinämie, Myokardinfarkte, sowie die Läsionsmorphologie zu nennen (Aldermann et al., 1993). Campeau und Kollegen beschrieben im Rahmen einer multivariaten Analyse die Risikofaktoren HDL, Cholesterol, LDL sowie Lipoprotein A als unabhängige Prädiktoren für den Verschluss aortokoronarer Venenbypässe (Campeau et al., 1984). Kon und Kollegen untersuchten die Verschlussrisikofaktoren von aortokoronaren Venenbypässen und berichteten, dass insbesondere die Matrix-Metallo-Proteinase-2-Konzentrationen mit der Entwicklung einer neointimalen Hyperplasie einherging (Kon et al., 2007). Rodes-Cabeau und Kollegen untersuchten die Verschlussrisikofaktoren von 123 aortokoronaren Venenbypässen und wiesen nach, dass HDL Cholesterol, die atherosklerotische Gesamtlast, sowie der Schweregrad der Venenbypassstenose unabhängige Risikofaktoren bezüglich der atherosklerotischen Progression der Venenbypässe darstellten (Rodes-Cabeau et al., 2007).

Die intimalen Veränderungen an Venen nach erfolgter Bypassoperation wurden bisher in einer Vielzahl von histologischen Studien beschrieben. Ehsan und Kollegen untersuchten elektronenmikroskopisch juguläre Venen-Karotiden-Interpositions-Bypässe an Kaninchen. Sie berichteten, dass eine mechanische Streckung des Venenbypasses eine sofortige Verminderung der endothelialen Zelldichte mit sich zog. Die endotheliale Zelldichte kehrte drei Tage nach erfolgter Implantation wieder auf den Ausgangswert zurück (Ehsan et al., 2002).

Xu und Kollegen beschrieben an Hand eines transgenen Mausmodells, bei dem die Hohlvene mit den Karotiden interponiert wurde, dass die Venengefäßintima einen Tag nach erfolgter Bypassoperation mit mononukleären Zellen bedeckt war, während am dritten postoperativen Tag ein fast vollständiger Endothelverlust vorherrschte, der nach vier Wochen durch neointimale Läsionen von mehr als 20 Zellschichten aufgehoben wurde (Xu et al., 2003).

Thomas und Kollegen wiesen in ihren Untersuchungen nach, dass Myofibroblasten einen Hauptbestandteil neointimaler Veränderungen darstellen (Thomas et al., 2003). Zhang und Kollegen belegten, dass 60% aller neointimalen Zellen aus dem implantierten Venenbypass stammen, so dass die Neointima aus einer Mischung von intrinsischen und extrinsischen Zellen gebildet wird (Zhang et al., 2004). Xu und Kollegen berichteten, dass sich 38% dieser extrinsischen Zellen von Knochenmarkszellen ableiteten (Xu et al., 2003), während Zhang und Kollegen in der untersuchten Neointima 10% Zellen vorfanden, die sich von Knochenmarkszellen ableiteten (Zhang et al., 2004).

1.3 Konservierung venöser Bypassgrafts

Endothelverletzungen der Venenbypässe auf Grund von mechanischen Manipulationen im Rahmen der Extraktion sind im klinischen Alltag schwer zu vermeiden und resultieren in einer gestörten Integrität des Venenendotheliums.

Dementsprechend sollten während der Venenextraktion mechanische Stressoren und Impulsflussprofile entsprechend minimiert werden. Weitere Faktoren, die eine Auswirkung auf die Gefässintegrität von Venenbypässen darstellen, sind die Zeitdauer der Gefässischämie, die Temperatur, die Zeitdauer der Aufbewahrung, die Konservierungslösung, sowie die Antikoagulation.

Eine Vielzahl von Konservierungslösungen ist im klinischen Alltag im Einsatz. Die Auswahl einer spezifischen Konservierungslösung hängt dabei zumeist von der Präferenz des Chirurgen ab. Zumeist werden Venenbypässe alternativ mit HTK-Bretschneider'scher Lösung, kaltem heparinisiertem Vollblut, Ringerlösung oder isotonischer Kochsalzlösung gespült und perfundiert.

Ein häufig verwendetes Studiendesign hinsichtlich der Konservierbarkeit von Venenbypässen ist die in- vitro- Untersuchung von isolierten Venenringen (Zerkowski et al., 1993). Ein direkter Vergleich von Venenpräparaten, die jeweils für 60 Minuten in heparinisiertem Vollblut, kardioplegischer Bretschneider'scher Lösung, Humanalbuminlösung oder Ringerlösung inkubiert wurden, zeigte, dass lediglich Venenbypässe in heparinisiertem Vollblut eine maximale Kontraktionskraft nach Zugabe von Noradrenalin aufwiesen (Zerkowski et al., 1993).

Ein weiterer Forschungsansatz ist die quantitative Analyse der erfolgten Apoptose. Nill und Kollegen untersuchten 500 Venenbypässe, die für jeweils 0, 30, 60, sowie 90 Minuten in isotoner Kochsalzlösung, HTK-Bretschneider'scher Lösung oder heparinisiertem Humanblut inkubiert wurden. Die dabei zu beobachtende Apoptose war insbesondere in der Gefässintima und –adventitia, weniger häufig in der Media zu beobachten. Die Venenbypässe, die mit heparinisiertem Humanblut inkubiert wurden, wiesen dabei die höchsten Apoptoseraten auf. Die Venenbypässe, die in isotonischer Kochsalzlösung inkubiert wurden, zeigten die geringste Apoptoserate (Nill et al., 2002).

Dem entgegen stehen Beobachtungen von Schäffer und Kollegen, die ergaben, dass die Bretschneider'sche Lösung, im Vergleich zu heparinisiertem Humanblut, Ringerlösung und physiologischer heparinierter Kochsalzlösung, die geringste Zytotoxizität humaner Venenbypässe aufwies (Schäffer et al., 1997). Funktionelle Tests, die die Endothelium-abhängige Relaxation untersuchten, ergaben, dass isotone Kochsalzlösung die geringste Konservierungsfähigkeit aufwies (Lawrie, 1990; Sjöberg et al., 1992). Nach Steen sollte eine Konservierung von humanen Venenbypässen mit heparinisiertem Humanblut oder der HTK-Bretschneider'schen Lösung erfolgen (Steen, 2001).

Nach Steen könnte Perfadex, eine Dextranlösung mit niedrigem Kaliumgehalt, eine geeignete Lösung für die Konservierung von Venenbypässen darstellen (Steen et al., 1994; Carbognani et al., 1997; Müller et al., 1999, Fischer et al., 2001, Strüber et al., 2001, Rabanal et al., 2003). Der Lösung werden zusätzlich der Puffer Trometamol, Papaverine und Heparin hinzugegeben. Diese Substanzen scheinen die Endothelfunktion zu verbessern. Der Zusatz von Dextran 40 in der Perfadexlösung bewirkt einen zusätzlichen antithrombotischen Effekt (Gertz et al., 1975; Keshavjee et al., 1992).

Kimblad und Kollegen berichteten, dass Kalium eine starke Vasokonstriktion der Pulmonalarterien bewirkt; ein Effekt, der insbesondere bei Raumtemperatur in Erscheinung tritt (Kimblad et al., 1991). Sohn und Kollegen berichteten von einem toxischen Effekt des Kaliums auf Grund der Bildung von freien Sauerstoffradikalen (Sohn et al., 2000). Dementsprechend könnte eine Dextranlösung mit niedrigem Kaliumgehalt die Produktion von freien Sauerstoffradikalen in der Lunge reduzieren (Kelly et al., 2003).

Ein Kalziummangel vermindert die kontraktile Reserve von glatten Muskelzellen, beeinflusst jedoch nicht die Endothelium-abhängige Gefäßrelaxation (Ingemansson et al., 1996; Ingemansson et al., 1997). Dementsprechend sollte eine Konservierungslösung eine adäquate Menge an Kalzium enthalten.

Weitere Konservierungslösungen aortokoronarer Venenbypässe stellen die University of Wisconsin Lösung sowie die Euro-Collins-Lösung dar. Die University of Wisconsin Lösung wird zumeist bei Nieren- oder Lebertransplantaten verwendet und weist einen hohen Kaliumgehalt auf.

1.4 Ischämie und Reperfusion

Ischämie und Reperfusion (IR) bei herzchirurgischen Eingriffen unter EKZ-Bedingungen führen zu bedeutsamen Veränderungen der Mikrozirkulation.

Dies betrifft den Herzmuskel, die Koronararterien sowie die neu angelegten Bypässe. Dabei sind die Mikrogefäße von zentraler Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Homöostase, da deren Endothel Mediator vieler pathophysiologischer Vorgänge bei Operationen mit EKZ ist (Boyle, Pohlmann, et al., 1996; Boyle, Verrier, et al., 1996; Sellke et al., 1996; Verrier, 1996).

Diese Funktionen beinhalten eine vasomotorische Funktion, die die Balance zwischen Vasokonstriktion und Vasodilatation reguliert, eine koagulatorische Funktion, die die Balance zwischen Gerinnung und Antikoagulation reguliert (Boyle, Verrier et al., 1996), eine Barrierefunktion, die den Transport von Flüssigkeiten und gelösten Stoffen reguliert und eine immunologische Funktion, die unter anderem die Adhärenz von Thrombozyten und Leukozyten reguliert. Nach Ischämie und Reperfusion können diese Funktionen beeinträchtigt sein.

Im Rahmen der vorliegenden Studie sind insbesondere die vasomotorischen, immunologischen und permeabilitätsregulierenden Funktionen von Bedeutung.

- Vasomotorische Funktion

Nach IR steigt der vaskuläre Widerstand und der Blutfluss fällt in aller Regel. Dabei sind die mikrozirkulatorischen Veränderungen ausgeprägter als die der größeren Gefäße und die Veränderungen an den postkapillären Venolen ausgeprägter als an den Arteriolen (Sellke et al., 1996).

- Immunologische Funktion

Endothel und polymorphkernige Leukozyten (PMNL) können Mediator-stimuliert Adhäsionsmoleküle bilden, die das Rollen von PMNL an der Endotheloberfläche, die Adhäsion und die transendotheliale Mi-

gration der PMNL initiieren. Diese Leukozyten- Endothel- Interaktionen mit der Freisetzung von Superoxid- Radikalen, proteolytischen Enzymen und Zytokinen sind die ersten Schritte, die zum Verlust der Endothel-Integrität führen (Royston et al., 1986; Butler et al., 1993; Boyle, Pohlmann et al., 1996; Verrier, 1996; Boyle et al., 1997).

- Permeabilitätsregulierende Funktion

Die Gefäßpermeabilität ist durch IR deutlich verändert, sowohl auf histologischer Ebene im Sinne einer Ödembildung, als auch klinisch im Sinne der Ausbildung eines „capillary leakage syndrome“ (CLS), das sekundär zu Organdysfunktionen führen kann (Kirklin et al., 1983; Royston et al., 1986; Springer, 1990; Butler et al., 1993; Moat et al., 1993; Seghaye et al., 1993).

Ein weiterer Trigger der immunologischen Antwort ist der Kontakt des Blutes mit den nicht endothelialisierten Oberflächen der Herz- Lungen- Maschine. Der Fremdoberflächenkontakt führt zur Aktivierung des Komplementsystems, was wiederum einen Trigger für die Freisetzung von Adhäsionsmolekülen durch Endothel und Leukozyten darstellt. Die Leukozyten können transendothelial in das Gewebe migrieren und durch oben genannte Mechanismen IR-Schäden hervorrufen. Dieser Sepsis-vergleichbare Zustand der inflammatorischen Reaktion wird als „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) bezeichnet und kann in letzter Konsequenz zum Multiorganversagen führen.

Die Therapie der oben genannten kritischen Zustände erfolgt nach wie vor an Hand von Parametern der Makrozirkulation wie etwa Blutdruck, Herzzeitvolumen, systemischen und pulmonalen Widerständen, sowie dem Sauerstoffverbrauch und der Sauerstoffversorgung. Der Hauptgrund für die Wahl dieses Therapieregimes ist der Mangel an im klinischen Alltag verfügbaren verlässlichen mikrozirkulatorischen Markern.

1.5 Studienziele

Bei den häufig verwendeten und am meisten zur Verfügung stehenden venösen Bypassgrafts ist das Ziel, ihre Offenheitsrate zu verbessern. Ziel dieser Studie war es, die Wirkung von Perfadex im Vergleich mit HTK-Bretschneider'scher Lösung auf peri- und postoperative

- Ischämie
- inflammatorische Wirkung
- Leukozytenadhäsion, sowie
- die Beurteilung der Ausbildung einer Venenfibroelastose

im Rahmen der Konservierung von humanen Venenbypässen bei der aorto-koronaren Bypassoperation zu untersuchen.

Als allgemeine Ischämiemarkersollten dabei die Kreatinkinase (CK), Kreatinkinase-Fraktion MB (CK-MB), Troponin I, als Entzündungsmediatoren Interleukin 6 (IL6) und Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNFa), sowie als Leukozytenadhäsionsmarker die Fluorescein-Isothiocyanat markierten monoklonalen Antikörper IB4 und D200, die spezifisch an β 2 Ketten des humanen Integrins (CD 18) bzw. L-Selectins (CD 62 L) binden bestimmt werden.

Die Bestimmung erfolgte jeweils vor Beginn der Operation, vor Beginn und nach Beendigung der EKZ, 24 Stunden postoperativ und 48 Stunden postoperativ. Anschließend wurde das jeweilige Gewebspräparat auf Vorhandensein und Ausprägung einer Fibroelastose untersucht, wobei die Ergebnisse der Perfadexgruppe direkt mit denen der Kontrollgruppe (HTK-Bretschneider'sche Lösung) verglichen werden sollten.

2. Patienten und Methodik

2.1 Studiendesign und -ablauf

Die vorliegende Studie wurde als prospektive, einfach randomisierte, klinisch kontrollierte Studie durchgeführt. Die Durchführung der Studie erfolgte nach Good Clinical Practice, entstehende Kosten wurden durch die Firma Vitrolife (Göteborg, Schweden) übernommen. Bei 20 erwachsenen Patienten, die sich an der Herzchirurgischen Klinik der LMU einer aortakoronaren Bypassoperation mit extrakorporaler Zirkulation in Vollnarkose unterzogen, wurden intraoperativ die als Bypassgrafts verwendeten Venen (Venae saphenae majores) in Perfadexlösung zwischen Entnahme und Anastomosierung gespült und eingelegt. Bei 20 weiteren Patienten wurden die Venae saphenae majores, wie bisher an der Klinik üblich, in Bretschneider'scher Lösung inkubiert. Die Venen wurden dabei stets vom gleichen Operateur entnommen. Alle Bypassoperationen wurden ebenfalls vom selben Herzchirurgen durchgeführt. Ein bis zwei Zentimeter der entnommenen und präparierten Venen wurden anschließend histologisch durch Prof. Dr. Diebold und Prof. Dr. Kirchner vom Pathologischen Institut der LMU München auf das Vorliegen und den Ausprägungsgrad einer Fibroelastose untersucht.

Um einen direkten Vergleich beider Konservierungslösungen herstellen zu können, sollte festgestellt werden, ob die Konservierungslösung venöser Bypassgrafts einen Einfluß auf den Untergang kardialen Muskelgewebes (insbesondere der glatten Gefäßmuskulatur) hat. Um das Ausmaß der Muskelnekrose näher bestimmen zu können, untersuchten wir die zeitlichen Plasmakonzentrationsverläufe der Myokardmarker Kreatinkinase als intrazelluläres Enzym aller Muskelzellen. Da jedoch speziell das Ausmaß der Gefäßmuskulaturnekrose und der Herzmuskelzellnekrose untersucht werden sollte, bestimmten wir ebenfalls die Herz-spezifische Kreatinkinase-Fraktion MB, die ausschliesslich in der Herzmuskulatur vorzufinden ist. Indirekt lässt sich somit ebenfalls das Ausmass der Nekrose der Gefäßmuskulatur nachweisen, indem die Konzentration der Herz-spezifischen Kreatinkinase-Fraktion MB

von der gesamten Plasmakonzentration der Kreatinkinase entsprechend subtrahiert wird. Darüberhinaus bestimmten wir die Konzentration des Troponins I, dass als Herz-spezifischer Marker im Rahmen des Vergleiches bei der Konservierungslösungen ebenfalls das Ausmass der Myokardnekrose exakt zu charakterisieren vermag.

Ausserdem sollten in der vorliegenden Arbeit die, im Rahmen der Bypassoperation, ablaufenden entzündlichen Veränderungen bei der Verwendung beider Konservierungslösungen entsprechend miteinander verglichen werden, wozu wir den Konzentrationsverlauf von spezifischen Entzündungsmediatoren untersuchten.

Interleukin 6 wird als pro-inflammatorisches Zytokin in der Gefässwand von glatten Muskelzellen bei Endothelzellschädigung produziert sowie von T-Lymphozyten und Makrophagen beim Vorliegen eines Gefässtraumas aktiv sezerniert. Tumor-Nekrose-Faktor alpha bezeichnet ein Zytokin, dass im Rahmen einer Entzündungsreaktion zumeist von Makrophagen freigesetzt wird. Die Bestimmung von Interleukin 6 sowie Tumor-Nekrose-Faktor alpha als Marker und Mediatoren einer Entzündungsreaktionen bot sich im Zusammenhang des direkten Vergleiches der Entzündungsreaktionen bei der Verwendung der beiden Konservierungslösungen entsprechend an.

Als Marker einer stattfindenden Leukozytenadhäsion wurden die Fluorescein-Isothiocyanate markierten monoklonalen Antikörper IB4 und D200, die spezifisch an $\beta 2$ Ketten des humanen Integrins (CD 18) bzw. L-Selectins (CD 62 L) binden, analysiert, die im Rahmen einer entzündlichen Reaktion eine Leukozytenadhäsion bewirken und somit ebenfalls als Entzündungsreaktionsmarker fungieren. Ein Vergleich der Konzentrationen der monoklonalen Antikörper IB4 und D200 konnte in diesem Zusammenhang ebenfalls dazu mithelfen, indirekt die Entzündungsreaktionen beider Konservierungslösungen entsprechend miteinander vergleichen zu können und zu bestimmen.

Bei beiden Patientengruppen wurden Blutabnahmen durchgeführt, wobei die Myokardmarker Kreatinkinase (CK), Kreatinkinase-Fraktion MB (CK-MB), Kreatinmasse (CK-Masse), sowie Troponin I (TropI), die Entzündungsmediatoren Interleukin 6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNFa), sowie als Leukozytenadhäsionsmarker die Fluorescein-Isothiocyanate markierten monoklonalen Antikörper IB4 und D200, die spezifisch an β 2 Ketten des humanen Integrins (CD 18) bzw. L-Selectins (CD 62 L) binden, zu den Zeitpunkten T1 – T5 entsprechend bestimmt wurden. Folgende Zeitpunkte wurden dabei definiert:

T1 = vor Beginn der Operation

T2 = vor Beginn der EKZ

T3 = nach Beendigung der EKZ

T4 = 24 Stunden postoperativ

T5 = 48 Stunden postoperativ

Eine Ausnahme boten hier die Leukozytenadhäsionsmarker IB4 und D200, die lediglich zu den Zeitpunkten T1 bis T4 bestimmt wurden.

2.2. Charakterisierung der Studienpatienten

Alle Studienpatienten wurden zur koronaren Revaskularisation in die Herzchirurgische Klinik am Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU) im Zeitraum zwischen Januar 2004 und Dezember 2004 eingewiesen. Die Studienpatienten wurden dabei entweder in die Perfadexstudiengruppe oder in die Kontrollgruppe, nach vorherigem schriftlichem Einverständnis, randomisiert. Die Zustimmung der Ethikkommission lag vor. Limitierend für die Studiengruppengröße war die Anzahl der zur Verfügung gestellten Perfadex-Präservationskits durch die Firma Vitrolife.

Die Perfadexgruppe umfasste 20 Patienten, sechszehn männliche Patienten, sowie vier weibliche Patientinnen. Das Durchschnittsalter betrug 63,9 Jahre, die Patienten wiesen die typischen kardiovaskulären Risikofaktoren wie Adipositas, Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus Typ II, sowie Nikotinabusus auf (siehe Tabelle 1)

Die Kontrollgruppe umfasste ebenfalls 20 Patienten, davon fünfzehn Männer, sowie fünf Frauen. Das Durchschnittsalter betrug 67,4 Jahre. Das Risikoprofil der Patienten entsprach demjenigen der Perfadexgruppe.

[Tabelle 1] zeigt die demographischen Daten beider Gruppen inklusive das kardiovaskuläre Risikoprofil sowie Begleiterkrankungen der eingeschlossenen Patienten

Tabelle 1: Demographische Daten, kardiovaskuläres Risikoprofil, Begleiterkrankungen

Kriterien	Perfadexgruppe (Patientenzahl, Prozent)	Kontrollgruppe (Patientenzahl, Prozent)
männlich/weiblich	16 (80%)/ 4 (20%)	15 (75%)/ 5 (25%)
Alter in Jahren (Median \pm SD)	63,9 \pm 10,5	67,4 \pm 9,9
Arterielle Hypertonie	18 (90%)	17 (85%)
Diabetes mellitus Typ II	17 (85%)	19 (95%)
Hyperlipidämie	20 (100%)	19 (95%)
pAVK	8(40 %)	6 (30%)
Nikotinabusus	20 (100%)	20 (100%)
Body Mass Index (Durchschnitt in kg/m ²)	26,38 \pm 3,87	27,2 \pm 3,9
Z. n. Apoplex	1 (5%)	0 (0%)
NYHA - Klassifikation nach	0: 0% I: 10% II: 40% III: 40% IV: 10%	0: 0% I: 5% II: 50% III: 40% IV: 5%
Z. n. Myokardinfarkt	10 (50%)	8 (40%)
linksventrikuläre Ejektionsfraktion in% (Median+SD)	60,04 \pm 14,5	60,47 \pm 14,1
instabile Angina pectoris	6 (30%)	1(5%)
Z.n. PTCA (Anzahl der Eingriffe in%)	1: 50% 2: 30% 3: 20%	1: 40% 2: 30% 3: 30%

2.3 Verwendete Agentien

2.3.1 Perfadexlösung

Perfadex (Vitrolife Transplantation Systems, Göteborg, Schweden, REF 19008) ist eine kaliumarme, leicht gepufferte Elektrolytlösung mit kolloidalen Anteilen, die zur Kühlung, Perfusion und Organkonservierung in Verbindung mit der Transplantation angewendet wird.

[Tabelle 2] illustriert die chemische Zusammensetzung der verwendeten Perfadexlösung.

Tabelle 2: Chemische Zusammensetzung von 1000 ml Perfadexlösung.

Natrium (Na)	136 mmol/l
Kalium (K)	5.9 mmol/l
Magnesium (Mg)	0,8 mmol/l
Chlorid (Cl)	142 mmol/l
Sulfat (SO ₄)	0,8 mmol/l
Glukose	4,9 mmol/l
Phosphat	0,8 mmol/l
Dextran 40	49 g/l
Kalzium (Ca)	1,1 mmol/l
Tometamol	0,9 mmol/l
Heparin	9900 IU/l
Osmolalität	325 mosmol/l

Perfadex wird im Vitrolife Vascular Preservation Kit geliefert, das folgende Bestandteile beinhaltet:

- eine Flasche mit 250 ml Perfadexlösung
- eine Spritze gefüllt mit 1 ml Kalziumchlorid 0,27 mmol
- eine Spritze gefüllt mit 1 ml Trometamol 0,23 mmol
- eine Spritze gefüllt mit 1 ml Natrium- Heparin 2500 IU
- zwei leere 20 ml Spritzen
- eine Gefäßtransplantat- Kanüle
- zwei Plastikbehälter mit Deckel

2.3.2 HTK-Bretschneider'sche Lösung

Die in der Kontrollgruppe verwendete Lösung zur Graft-Konservierung ist die HTK-Bretschneider'sche Lösung. Diese wird bereits gebrauchsfertig geliefert und verwendet (Custodiol®, Fa. Dr. F. Köhler Chemie).

[Tabelle 3] illustriert die chemische Zusammensetzung der verwendeten HTK-Bretschneider'schen Lösung.

Tabelle 3: Chemische Zusammensetzung von 1000 ml HTK-Bretschneider'scher Lösung.

Natriumchlorid (NaCl)	15 mmol/l
Kaliumchlorid (KCl)	9 mmol/l
Kalium-2 Hydrogenglutarat	1 mmol/l
Magnesiumchlorid (MgCl-6 H ₂ O)	4 mmol/l
Histidin- HCl-H ₂ O	18 mmol/l
Histidin	180 mmol/l
Tryptophan	2 mmol/l
Mannitol	30 mmol/l
Kalziumchlorid (CaCl ₂)	0,015 mmol/l
Chlorid	50 mmol/l
Osmolalität	310 mosmol/kg

2.4 Bestimmung der Serumparameter

2.4.1 Bestimmung der Myokardmarker

Die Bestimmung der Myokardmarker (CK, CK-MB, CK-Masse, Tropl) wurde zu den oben erwähnten Zeitpunkten T1-T5 durchgeführt. Die Serumentnahme erfolgte dabei aus dem durch die Anästhesie gelegten zentralen Venenkatheter. Die Blutproben wurden nach Operationsende dem Institut für Klinische Chemie am Klinikum Großhadern zur Auswertung übergeben. Die Myokardmarker wurden durch folgende Messverfahren bestimmt.

- CK: IFCC-Methode, Olympus AU 2700 (Olympus)
- CK-MB-Aktivität: IFCC-Methode, Olympus AU 2700 (Olympus)
- CK-MB-Masse: Chemilumineszenz-Immunoassay, Centaur (Siemens)
- Troponin I: Chemilumineszenz-Immunoassay, Centaur (Siemens)

2.4.2 Bestimmung von Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha

Analog der Entnahme der Myokardmarker wurden Blutproben zur Bestimmung von Interleukin-6 (IL6) und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF-alpha) abgenommen und ebenfalls dem Institut für Klinische Chemie am Klinikum Großhadern zur Auswertung übergeben. Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha wurden dabei durch folgende Messverfahren bestimmt.

- IL-6: Chemilumineszenz-Immunoassay, Immulite 2000 (DPC Biermann)
- TNF-alpha: Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay (EASIA) der Firma Biosource (Gerät: Cobas Core II, Roche)

2.4.3 Bestimmung der monoklonalen Antikörper IB4 und D200

Zur Bestimmung von IB4 (bindet spezifisch an CD18) und D200 (bindet spezifisch an CD62) wurde zu den Zeitpunkten T1-T4 eine separate Blutprobe entnommen. Dazu wurden 2 ml Vollblut in eine heparinisierte (0,2 ml Heparin) eisgekühlte Spritze abgenommen. Bis zur weiteren Analyse wurde die Probe verschlossen in Eiswasser gelagert. Im Labor wurden die Proben in ein eisgekühltes 10 ml Polypropylenröhrchen überführt, um so für die weitere Untersuchung in einem geeigneten Gefäß zur Verfügung zu stehen. Der exakte Versuchsablauf ist in [Tabelle 4] dargestellt.

Tabelle 4: Versuchstechnische Bestimmung von IB4 und D200.

Inkubationszeit	Vorgehen
	1x Spülen mit eisgekühlter isotonischer HBSS anschließend bei 1500 G und 4°C 5 min. zentrifugieren
	1x Spülen mit eisgekühlter isotonischer HBSS anschließend bei 1500 G und 4°C 5 min. zentrifugieren
	Zellpellet auf initiales Blutvolumen resuspendieren

0 min, auf Eiskühlung	20 µl Blut mit 20 µl Antikörper (IB4 oder D200) versetzen
20 min, auf Eiskühlung	die Probe mit 750 µl BD- Lysereagenz versetzen
65 min, auf Eiskühlung	1x waschen mit eisgekühlter isotonischer HBSS anschließend bei 1500 G und 4°C 5 min. zentrifugieren
	auf ca. 300µl absaugen
	zur Auswertung im FACS- Scan im Kühlschrank bei 4°C ca. 2 Tage aufbewahrbar

Legende:

FACS = „Fluorescence Activated Cell Sorting“

HBSS = “Hank’s Buffered Salt Solution”

Die Auswertung am durch „Fluorescence Activated Cell Sorting“ (FACS) wurde im Labor von Prof. Dr. med. M. Thiel des Institutes für Anästhesiologie des Klinikums Großhadern durchgeführt.

2.5 Statistische Methoden

Alle erhobenen Parameter wurden jeweils als Mediane und Mittelwerte inklusive Standardabweichung angegeben.

Für alle Vergleiche der Parameter der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe wurden Signifikanzen in Form des Student’s T-Testes berechnet, wobei das Signifikanzniveau als $p \leq 0.05$ definiert wurde.

Alle statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe der Statistikstandardsoftware (SPSS 13.0) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Analyse der Myokardmarker

3.1.1 Analyse der Kreatinkinase (CK)

Die Kreatinkinase (CK) stieg bei allen beobachteten Patienten beider Studiengruppen kontinuierlich an, wobei die CK bei der Kontrollgruppe 48 Stunden nach erfolgter Operation bereits wieder abfiel, während sie in der Perfadexgruppe weiterhin anstieg. Zu keinem Zeitpunkt bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen (Perfadexgruppe und Kontrollgruppe). Patienten in der Perfadexgruppe wiesen jedoch höhere Gesamtwerte bezüglich der CK auf.

[Tabelle 5] verdeutlicht den Vergleich der CK-Werte der Perfadexgruppe im Vergleich mit denen der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten T1 bis T5 (präoperativ, vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation, unmittelbar postoperativ, 24 Stunden postoperativ, sowie 48 Stunden postoperativ).

Tabelle 5: Mediane und Standardabweichungen der Kreatinkinase in Units pro Liter zu den Zeitpunkten T1 bis T5.

	prä-OP	prä-EKZ	post-OP	post-OP 24 h	post-OP 48 h
Median+/- Standardabweichung Perfadexgruppe	49 +/-33	102 +/-56	293 +/-184	852 +/-353	1872 +/-914
Median+/- Standardabweichung Kontrollgruppe	56 +/-36	57 +/-53	233 +/-183	575 +/-1570	466 +/-2192

Legende:

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

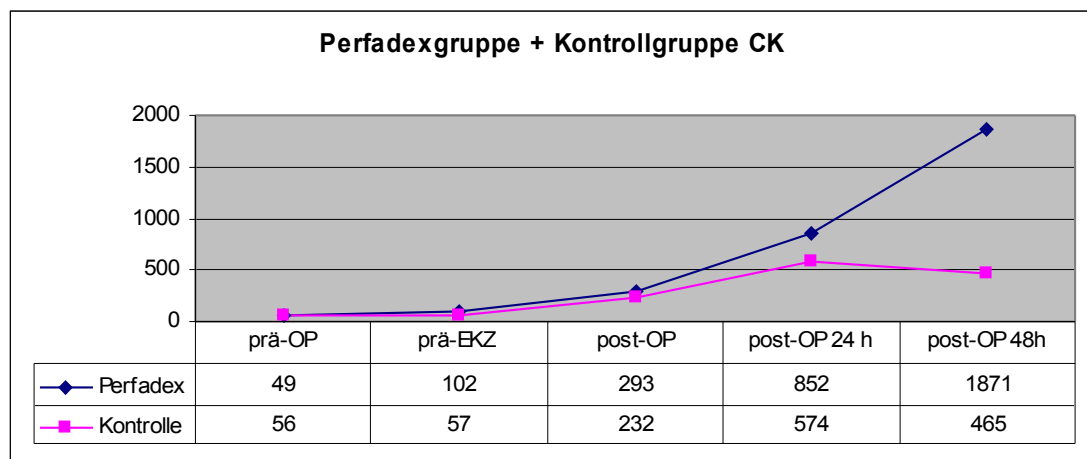
post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

[Abbildung 1] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich der CK beider Studiengruppen.

Abbildung 1: Grafischer Vergleich der Mediane der Kreatinkinase (CK) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Units pro Liter.



($p > 0,05$)

Legende:

CK = Kreatinkinase

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

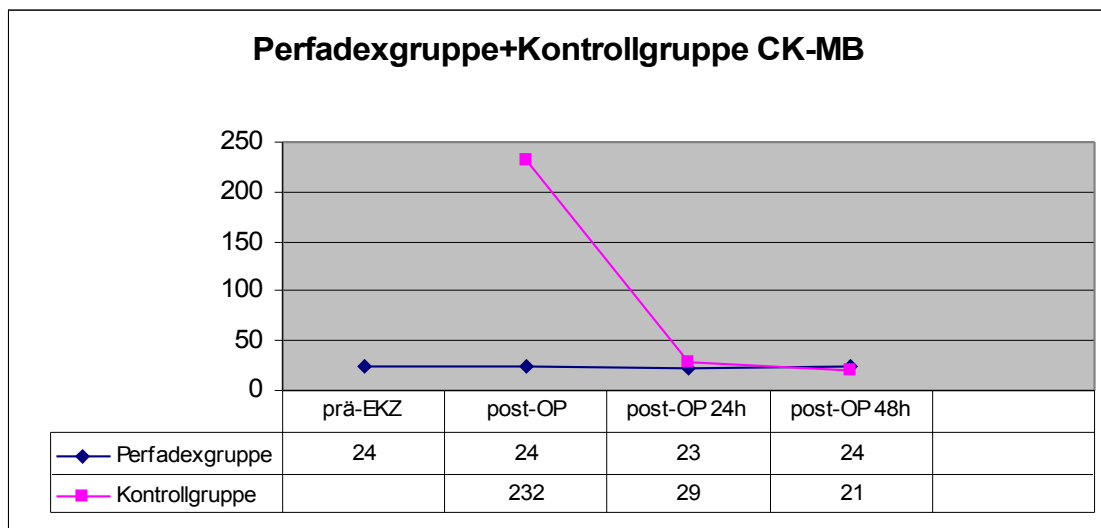
post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

3.1.2 Analyse der Kreatinkinase-Untereinheit MB (CK-MB)

Die Kreatinkinase-Untereinheit MB (CK-MB) stieg bei den Patienten beider Studiengruppen postoperativ an, wobei die CK-MB bei der Kontrollgruppe 48 Stunden nach erfolgter Operation wieder abfiel, während sie in der Perfadexgruppe bereits 24 Stunden nach erfolgter Operation abfiel. Ebenfalls zu beobachten, war die Tatsache, dass Patienten in der Kontrollgruppe um bis zu 21 Prozent höhere CK-MB-Werte aufwiesen, im Vergleich zu Patienten in der Perfadexgruppe. Dieser Unterschied erreichte bei den postoperativen Werten nach 24 Stunden statistische Signifikanz ($p = 0,04$). Die präoperativen Werte sowie die CK-MB-Werte der Kontrollgruppe vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation wurden bei normwertigen CK-Werten nicht erfasst und konnten dementsprechend nicht analysiert werden.

[Abbildung 2] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich der CK-MB beider Studiengruppen.

Abbildung 2: Grafischer Vergleich der Mediane der Kreatinkinase-Untereinheit MB (CK-MB) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Prozent.



($p = 0,04$)

Legende:

CK-MB = Kreatinkinase-Untereinheit-MB

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

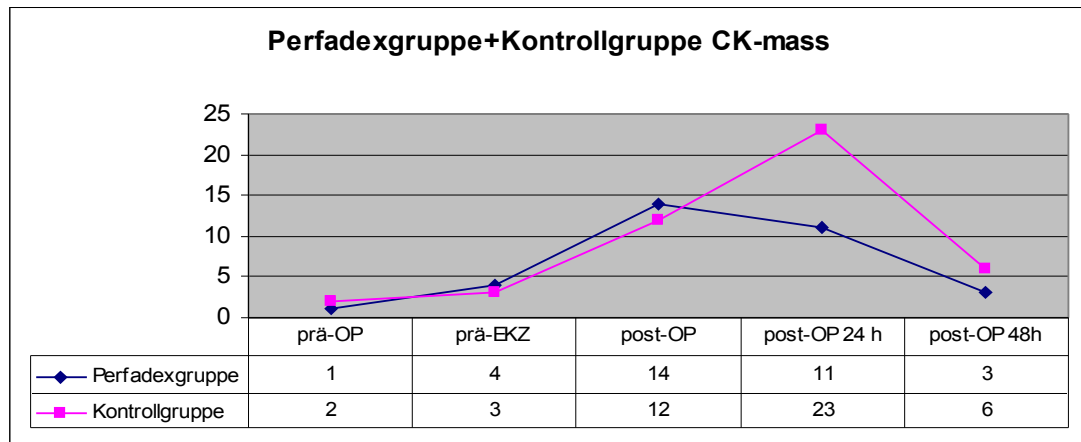
post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

3.1.3 Analyse der Kreatinkinase-Masse (CK-Masse)

Die Kreatinkinase-Masse (CK-Masse) stieg bei allen beobachteten Patienten beider Studiengruppen postoperativ an, wobei die CK-Masse bei der Kontrollgruppe 48 Stunden nach erfolgter Operation wieder abfiel, während sie in der Perfadexgruppe bereits 24 Stunden nach erfolgter Operation abfiel. Ebenfalls zu beobachten, war die Tatsache, dass Patienten in der Kontrollgruppe deutlich höhere CK-Massen-Werte aufwiesen, im Vergleich zu Patienten in der Perfadexgruppe. Zu keinem Zeitpunkt wurden jedoch statistisch signifikante Unterschiede beobachtet ($p > 0,05$).

[Abbildung 3] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich der CK-Masse beider Studiengruppen.

Abbildung 3: Grafischer Vergleich der Mediane der Kreatinkinase-Masse (CK-Masse) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Milligramm pro Liter.



($p > 0,05$)

Legende:

CK-mass = Kreatinkinase-Masse

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

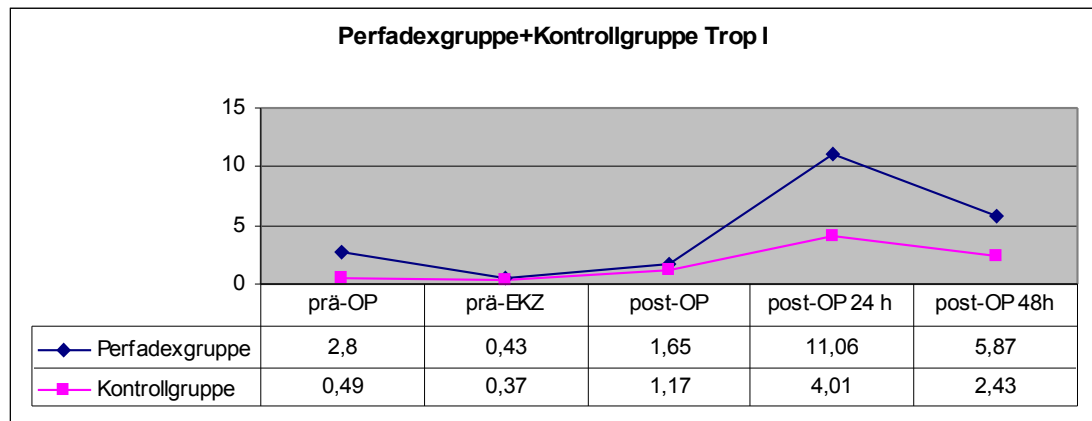
post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

3.1.4 Analyse des Troponin I (TropI)

Das Troponin I (TropI) stieg bei allen beobachteten Patienten beider Studiengruppen postoperativ an und erreichte 24 Stunden nach erfolgter Operation bei beiden Gruppen ein Maximum, wobei der Medianwert in der Perfadexgruppe mit 11,06 Mikrogramm pro Liter höher lag, als dies bei der Kontrollgruppe der Fall war (4,01 Mikrogramm pro Liter). Bei beiden Patientengruppen fiel der Troponinwert 48 Stunden nach erfolgter Operation wieder ab. Zu keinem Zeitpunkt bestand jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen ($p > 0,05$).

[Abbildung 4] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich des Tropl beider Studiengruppen.

Abbildung 4: Grafischer Vergleich der Mediane des Troponin I (Tropl) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Mikrogramm pro Liter.



(p > 0,05)

Legende:

Tropl = Troponin I

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

3.2 Analyse der Entzündungsmediatoren

3.2.1 Analyse des Interleukin-6 (IL-6)

Das Interleukin-6 (IL-6) stieg bei allen beobachteten Patienten beider Studiengruppen postoperativ an und erreichte 24 Stunden nach erfolgter Opera-

tion bei beiden Gruppen ein Maximum, wobei der Medianwert in der Perfadexgruppe mit 977 Units pro Milliliter deutlich höher lag, als dies bei der Kontrollgruppe der Fall war (248 Units pro Milliliter). Dieser Unterschied wies 24 Stunden nach erfolgter Operation statistische Signifikanz auf ($p = 0,001$). Bei beiden Patientengruppen fiel der IL-6-Wert 48 Stunden nach erfolgter Operation wieder ab.

[Tabelle 6] verdeutlicht den Vergleich der IL-6-Werte der Perfadexgruppe im Vergleich mit denen der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten T1 bis T5 (präoperativ, vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation, unmittelbar postoperativ, 24 Stunden postoperativ, sowie 48 Stunden postoperativ).

Tabelle 6: Mediane und Standardabweichungen des Interleukin-6 in Units pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T5.

	prä-OP	prä-EKZ	post-OP	post-OP 24 h	post-OP 48 h
Perfadexgruppe					
Median +/-	5	9	68	977	144
Standardabweichung	+/- 1	+/-7	+/-27	+/-492	+/-49
Kontrollgruppe					
Median +/-	5	8	78	248	189
Standardabweichung	+/-7	+/-25	+/-55	+/-446	+/-56

Legende:

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

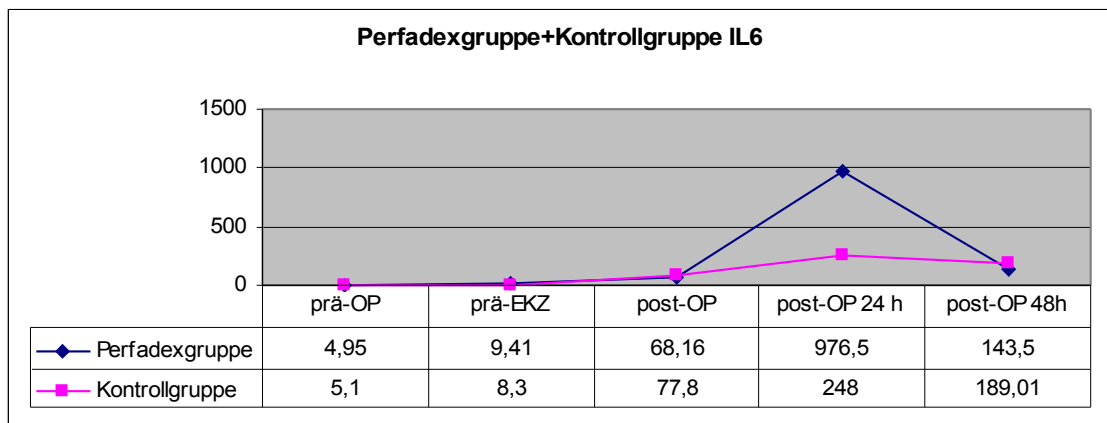
post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

[Abbildung 5] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich des IL-6 beider Studiengruppen.

Abbildung 5: Grafischer Vergleich der Mediane des Interleukin-6 (IL-6) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Units pro Milliliter.



(p = 0,001)

Legende:

IL6 = Interleukin-6

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

3.2.2 Analyse des Tumor-Nekrose-Faktors-alpha (TNFa)

Der Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNFa) sank vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation bei beiden Studiengruppen leicht ab, um unmittelbar postoperativ auf die jeweiligen präoperativen Ausgangswerte zurückzukehren.

Weiterhin stieg TNFa bei beiden Studiengruppen 48 Stunden postoperativ leicht an, wobei zwischen den Studiengruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten ($p > 0,05$).

[Tabelle 7] verdeutlicht den Vergleich der TNFa-Werte der Perfadexgruppe im Vergleich mit denen der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten T1 bis T5 (präoperativ, vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation, unmittelbar postoperativ, 24 Stunden postoperativ, sowie 48 Stunden postoperativ).

Tabelle 7: Mediane und Standardabweichungen des Tumor-Nekrose-Faktors-alpha in Nanogramm pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T5.

	prä-OP	prä-EKZ	post-OP	post-OP 24 h	post-OP 48 h
Perfadexgruppe					
Median +/-	15	11	14	17	25
Standardabweichung	+/-4	+/-3	+/-6	+/-3	+/-8
Kontrollgruppe					
Median +/-	17	11	17	16	23
Standardabweichung	+/-6	+/-5	+/-10	+/-10	+/-10

Legende:

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

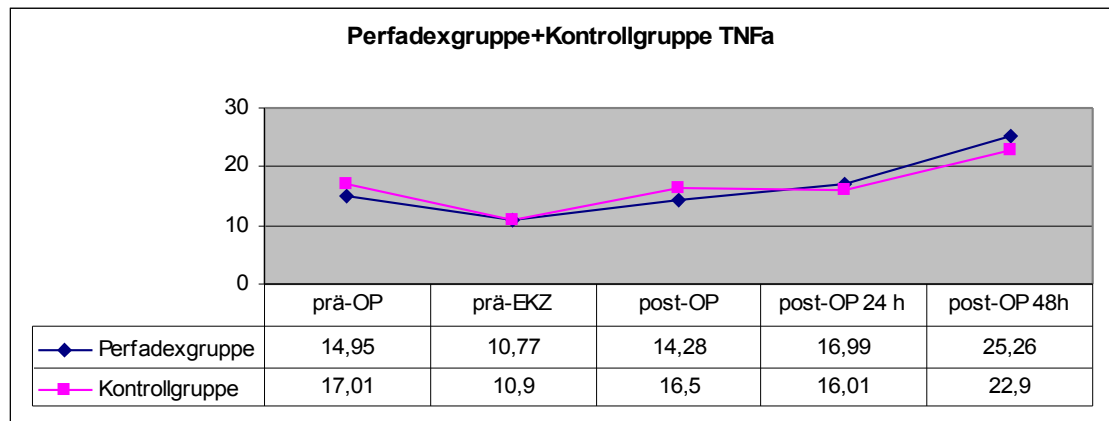
post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

[Abbildung 6] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich des TNFa beider Studiengruppen.

Abbildung 6: Grafischer Vergleich der Mediane des Tumor-Nekrose-Faktors alpha (TNFa) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Nanogramm pro Milliliter.



($p > 0,05$)

Legende:

Tumor-Nekrose-Faktor alpha = TNFa

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

post-OP 48 h = 48 Stunden postoperativ

3.3 Analyse der Leukozytenadhäsionsmarker

3.3.1 Analyse des monoklonalen Antikörpers IB4

Der monoklonale Antikörper IB4 (IB4) stieg bei allen beobachteten Patienten beider Studiengruppen unmittelbar postoperativ an und fiel 24 Stunden nach erfolgter Operation wieder bei beiden Studiengruppen ab. Dabei ist anzumer-

ken, dass die Kontrollgruppe unmittelbar postoperativ einen statistisch signifikant höheren Wert aufwies (17 Mikrogramm pro Milliliter im Vergleich zu 16 Mikrogramm pro Milliliter der Perfadexgruppe bei $p = 0,022$), wobei jedoch präoperativ die Patienten der Kontrollgruppe ebenfalls im direkten Vergleich mit den Patienten der Perfadexgruppe einen statistisch signifikant höheren Ausgangsmedianwert aufwiesen (13 Mikrogramm pro Milliliter im Vergleich zu 9 Mikrogramm pro Milliliter der Perfadexgruppe bei $p = 0,04$).

[Tabelle 8] verdeutlicht den Vergleich der IB4-Werte der Perfadexgruppe im Vergleich mit denen der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten T1 bis T4 (präoperativ, vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation, unmittelbar postoperativ, sowie 24 Stunden postoperativ).

Tabelle 8: Mediane und Standardabweichungen des monoklonalen Antikörpers IB4 in Mikrogramm pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T4.

	prä-OP	prä-EKZ	post-OP	post-OP 24 h
Perfadexgruppe				
Median +/-	9	12	16	13
Standardabweichung	+/-3	+/-5	+/-5	+/-4
Kontrollgruppe				
Median +/-	13	13	17	13
Standardabweichung	+/-7	+/-5	+/-5	+/-3

Legende:

prä-OP = präoperativ

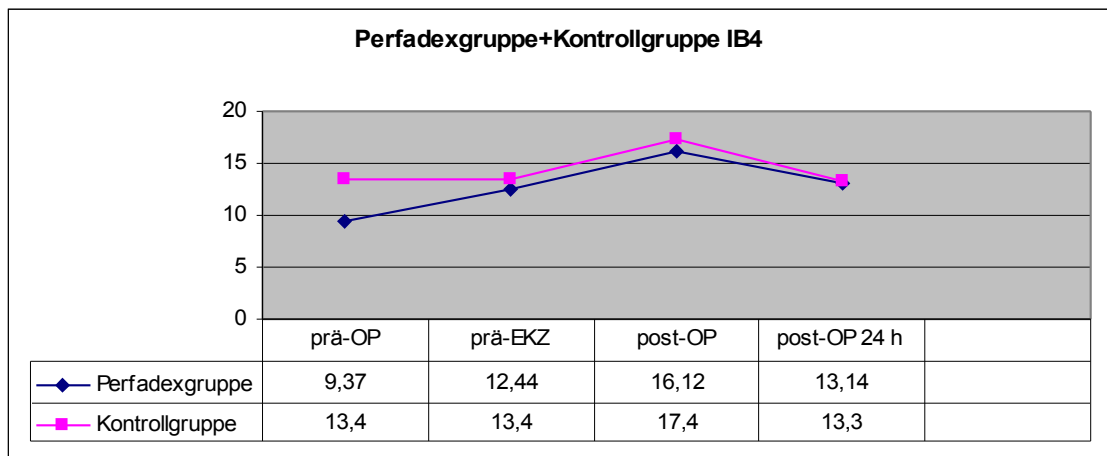
prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

[Abbildung 7] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich IB4 beider Studiengruppen.

Abbildung 7: Grafischer Vergleich der Mediane des monoklonalen Antikörpers IB4 der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Mikrogramm pro Milliliter.



(p = 0,022)

Legende:

IB4 = monoklonaler Antikörper IB4

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

3.3.2 Analyse des monoklonalen Antikörpers D200

Der monoklonale Antikörper D200 (D200) stieg bei allen beobachteten Patienten beider Studiengruppen unmittelbar postoperativ leicht an und fiel 24 Stunden nach erfolgter Operation wieder bei beiden Studiengruppen ab. Dabei ist anzumerken, dass die Perfadexgruppe unmittelbar postoperativ einen

statistisch signifikant leicht erhöhten Wert aufwies (33 Mikrogramm pro Milliliter im Vergleich zu 29 Mikrogramm pro Milliliter der Kontrollgruppe bei $p = 0,013$).

[Tabelle 9] verdeutlicht den Vergleich der D200-Werte der Perfadexgruppe im Vergleich mit denen der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten T1 bis T4 (präoperativ, vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation, unmittelbar postoperativ, sowie 24 Stunden postoperativ).

Tabelle 9: Mediane und Standardabweichungen des monoklonalen Antikörpers D200 in Mikrogramm pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T4.

	prä-OP	prä-EKZ	post-OP	post-OP 24 h
Perfadexgruppe				
Median +/-	27	29	33	26
Standardabweichung	+/-4	+/-4	+/-4	+/-6
Kontrollgruppe				
Median +/-	26	29	30	22
Standardabweichung	+/-5	+/-5	+/-6	+/-8

Legende:

prä-OP = präoperativ

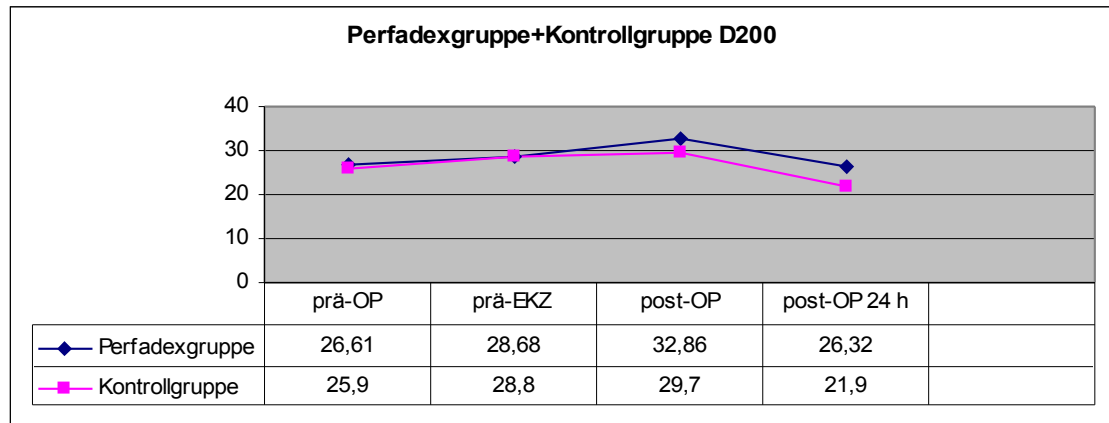
prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

post-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

[Abbildung 8] veranschaulicht grafisch den Verlauf der Medianwerte bezüglich D200 beider Studiengruppen.

Abbildung 8: Grafischer Vergleich der Mediane des monoklonalen Antikörpers D200 der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Mikrogramm pro Milliliter.



(p = 0,013)

Legende:

D200 = monoklonaler Antikörper D200

prä-OP = präoperativ

prä-EKZ = vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation

post-OP = unmittelbar postoperativ

p-OP 24 h = 24 Stunden postoperativ

3.4 Analyse von extrakorporaler Bypasszeit, aortaler Abklemmzeit, Lagerzeit der Venenbypässe und des Auftretens einer Venenfibroelastose

Patienten der Perfadexgruppe wiesen in Bezug auf die aortokoronare Bypasszeit und die Abklemmzeit der Aorta statistisch signifikant höhere Werte auf, als dies bei Patienten der Kontrollgruppe der Fall war (119 Minuten gegenüber 105 Minuten bei p = 0,035 bzw. 102 Minuten gegenüber 86 Minuten bei p = 0,034).

[Tabelle 10] illustriert die Vergleiche der extrakorporalen Bypasszeit und der Abklemmzeit der Aorta der Perfadexgruppe im Vergleich mit denen der Kontrollgruppe.

Tabelle 10: Mediane und Standardabweichungen der extrakorporalen Bypasszeit und der Abklemmzeit der Aorta in Minuten.

	Extrakorporale Bypasszeit	Abklemmzeit (Aorta)
Perfadexgruppe		
Median +/-	118	105
Standardabweichung	+/-28	+/-28
Kontrollgruppe		
Median +/-	103	73
Standardabweichung	+/-29	+/-27

Tabelle 11: Mediane, inklusive Standardabweichung der Lagerzeit der entnommenen Venenbypässe, sowie des histologischen Ausprägungsgrades einer Fibroelastose.

	Lagerungszeit	Fibroelastosegrad
Perfadexgruppe		
Median +/-	120	1
Standardabweichung	+/-33	+/-0,5
Kontrollgruppe		
Median +/-	90	1
Standardabweichung	+/-26	+/-0,5

Patienten der Perfadexgruppe wiesen in Bezug auf die Lagerzeit der entnommenen Venenbypässe statistisch signifikant höhere Werte auf, als dies bei Patienten der Kontrollgruppe der Fall war (bei $p = 0,001$).

Hinsichtlich des histologischen Vergleichs bezüglich des Ausprägungsgrades einer Fibroelastose der beiden Studiengruppen ist anzumerken, dass Venenbypässe, die in Perfadexlösung inkubiert wurden, hinsichtlich des Mittelwertes keinen statistisch signifikant geringeren Grad an Fibroelastose aufwiesen, als dies bei Venenbypässen der Fall war, die in Bretschneiderscher Lösung konserviert wurden (0,7 gegenüber von 1,0 bei $p = 0,053$), was sich beim Vergleich beider Mediane ebenfalls beobachten liess, so dass keine eindeutige Überlegenheit der Venenbypässe, die in Perfadexlösung inkubiert wurden, beobachtet werden konnte.

5 Patienten wiesen bei der histologischen Untersuchung keine Fibroelastose auf (Grad 0), die Mehrheit (19 Patienten) wiesen eine geringgradige Fibroelastose auf (Grad 1), sowie 2 Patienten wiesen eine stärkere Fibroelastose auf.

Dabei ist ebenfalls anzumerken, dass der histologische Ausprägungsgrad der Fibroelastose in Grad 0, 1 und 2 erfolgte, wobei Grad 0 keine fibroelastotische Verbreiterung der Gefässintima bedeutete, Grad 1 eine geringgradige fibroelastotische Verbreiterung der Gefässintima, sowie Grad 2 eine stärkere fibroelastotische Verbreiterung der Gefässintima bedeutete, wobei die histologische Einteilung der subjektiven Bewertung des jeweiligen Pathologen unterlag.

4. Diskussion

Perfadex, eine Dextranlösung mit niedrigem Kaliumgehalt, verhindert eine frühzeitige Endothelzelldysfunktion, verringert die Expression von Adhäsionsmolekülen bzw. Apoptosemarkern, vermindert die Leukozytenadhäsion und Expression von CD11, 18, und 62, zeichnet sich klinisch durch eine verringerte Mortalität im Vergleich zu heparinisiertem Vollblut aus und verhindert einen frühzeitigen Graftverschluss. Perfadex wurde speziell dazu hergestellt, die Funktion und Integrität von Transplantaten während der Spülung und kühler ischämischer Lagerung vor Anastomosierung und Reperfusion zu erhalten.

Eine Vielzahl von Studien favorisiert die Verwendung von Perfadex im Rahmen der Organkonservierung bei Lungentransplantationen, wobei Perfadex, im Vergleich zu Euro-Collins-Lösung, bei einem niedrigeren Kaliumgehalt, ein deutlich besseres Konservierungsprofil aufwies (Steen et al., 1994; Carbognani et al., 1997; Müller et al., 1999, Fischer et al., 2001, Stehen et al., 2001; Strüber et al., 2001, Rabanal et al., 2003).

Welz und Kollegen untersuchten die Auswirkung von Konservierungslösungen (isotone Kochsalzlösung, isotone heparinisierte Kochsalzlösung, Ringerlaktatlösung, heparinisiertes Vollblut, sowie HTK-Bretschneider'sche Lösung) auf die Lagerungsfähigkeit von humanen Venenbypässen und berichteten, dass die Lagerung in Bretschneider'scher Lösung anderen Lösungen gegenüber überlegen sei, wobei jedoch kein direkter Vergleich mit Perfadexlösung hergestellt wurde (Welz et al., 1991).

In der vorliegenden Arbeit wurde Perfadexlösung mit HTK-Bretschneider'scher Lösung in Bezug auf die Konservierungsfähigkeit von humanen Venenbypässen verglichen. Hinsichtlich der Myokardmarker (Kreatinkinase (CK), Kreatinkinase-Fraktion MB (CK-MB), Kreatinmasse (CK-Masse), Troponin I) bestanden bei den Patienten beider Studiengruppen keine signifikanten Unterschiede. Die bestimmten Entzündungsmediatoren Interleukin 6 und

Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNFa), sowie die Leukozytenadhäsionsmarker als Fluorescein-Isothiocyanate markierte monoklonale Antikörper IB4 und D200, die spezifisch an $\beta 2$ Ketten des humanen Integrins (CD 18) bzw. L-Selectins (CD 62 L) binden, wiesen ebenfalls keine statistisch und klinisch signifikanten Unterschiede auf, außer der Tatsache, dass bei Patienten, bei denen die Venenbypässe in Perfadexlösung inkubiert wurden, 24 Stunden postoperativ höhere Interleukin-6 Werte gemessen wurden, als bei Patienten, deren Venenbypässe mit HTK-Bretschneider'scher Lösung inkubiert worden waren.

Bezüglich der histopathologischen Untersuchung der Venenbypasspräparate konnte festgestellt werden, dass diejenigen Venenbypässe, die in Perfadexlösung inkubiert worden waren, nicht mehr bzw. weniger statistisch signifikante histologische Veränderungen in Form einer Fibroelastose aufwiesen, als dies bei Venenbypässen der Fall war, die zuvor in Bretschneider'scher Lösung inkubiert worden waren und dies obwohl diejenigen Venenbypässe, die in Perfadexlösung inkubiert worden waren, eine um durchschnittlich 14 Minuten längere extrakorporale Bypasszeit, 16 Minuten längere Abklemmzeit der Aorta, sowie eine um 39 Minuten längere Lagerzeit zu verzeichnen hatten.

Die gewebliche Entwicklung einer Fibroelastose im Rahmen der Venenkonservierung wurde in der Literatur bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht beschrieben und bedarf weiterer Studien, um deren pathophysiologische Bedeutung bezüglich Venenbypässen weiter charakterisieren und untersuchen zu können.

Theoretische Erklärungsansätze bezüglich der klinischen Ausprägung einer Fibroelastose könnten sich auf die unterschiedliche Elektrolytzusammensetzung beider Konservierungslösungen beziehen.

Obwohl die Osmolalität beider Lösungen annähernd identisch sind, weist die HTK-Bretschneider'sche Lösung einen vermehrten Kaliumgehalt auf, was nach Untersuchungen von Sohn und Kollegen zu einer vermehrten Bildung von freien Sauerstoffradikalen führen könnte, die einen toxischen Effekt auf das Gefäßendothel ausüben könnten (Sohn et al., 2000), wohingegen eine Dextranlösung mit niedrigem Kaliumgehalt die Produktion von freien Sauerstoffradikalen reduzieren könnte (Kelly et al., 2003).

Eine weitere Ursache für den unterschiedlichen Ausprägungsgrad einer Fibroelastose am Venengefäßpräparat könnte der kolloidale Hauptanteil von Perfadex, eine 40%ige Dextranlösung, sein, die die Mikrovaskulatur speziell vor postischämischem Reperfusionsschaden schützt. Hierbei steht pathophysiologisch betrachtet insbesondere die Vermeidung einer pathologischen Leukozyten-Endothel-Interaktion im Vordergrund, wobei Ödeme verhindert werden und der Thromboseentwicklung entgegengewirkt werden könnte (Welz et al., 1991; Massa et al., 1994; Spaggiari et al., 1994; Stehen et al., 1994; Ingemansson et al., 1995; Ingemansson et al., 1996; Albes et al., 1997; Brando et al., 1998; Muller et al., 1999; Witwer et al., 1999; Struber et al., 2000; Witwer et al., 2000; Fischer et al., 2001; Struber et al., 2001). Außerdem sorgt der kolloid-osmotische Effekt der Dextranlösung für eine Hämodilution mit verbesserter Kapillarperfusion und verminderter Viskosität (Bergqvist et Bergentz, 1983), was ebenfalls die Ausprägung einer Fibroelastose bei Venenbypässen, die mit Perfadexlösung konserviert wurden, deutlich verringern könnte.

Studienlimitationen bestehen auf Grund der geringen Fallzahl, eingeschränkten Generalisierbarkeit der erhobenen Ergebnisse, die durch weitere Untersuchungen in diesem Forschungsgebiet entsprechend zu bestätigen sind. Die Patientenauswahl war konsekutiv zufällig, so dass Bias nicht ausschliessbar ist.

Es war an Hand der vorliegenden Ergebnisse nicht möglich, die untersuchten Parameter Myokardmarker (Kreatinkinase (CK), Kreatinkinase-Fraktion MB (CK-MB), Kreatinmasse (CK-Masse), Troponin I), Entzündungsmediatoren (Interleukin 6 und Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNFa)), sowie Leukozytenadhäsionsmarker (Fluorescein-Isothiocyanate markierte monoklonale Antikörper IB4 und D200) als Prädiktoren bezüglich des vermehrten Auftreten einer Fibroelastose an Venenbypässen in Zusammenhang zu bringen. Der lokale Effekt des Perfadex am Bypassmaterial ist vermutlich zu gering, um eine systemische Reaktion auszulösen.

5. Zusammenfassung

Die Verschlussrate von aortokoronaren Venenbypässen stellt einen wichtigen Faktor bei der Progression der koronaren Herzerkrankung nach erfolgter aortokoronarer Bypassoperation dar.

Ziel dieser Studie war es, die Wirkung von Perfadex im Vergleich mit Bretschneider'scher Lösung auf die Endothelzellfunktion im Rahmen der Konservierung von humanen Venenbypassgrafts zu untersuchen.

Die vorliegende Studie wurde als prospektive, randomisierte Studie durchgeführt. Bei 20 erwachsenen Patienten, die sich an der Herzchirurgischen Klinik der LMU einer aortokoronaren Bypassoperation mit extrakorporaler Zirkulation in Vollnarkose unterzogen, wurden intraoperativ die als Bypassgrafts verwendeten Venen (Venae saphenae magnae) in Perfadexlösung zwischen Entnahme und Anastomosierung gespült und eingelegt. Bei 20 weiteren Patienten wurden die Venae saphenae magnae, wie bisher an der Klinik üblich, in Bretschneider'scher Lösung inkubiert. Die Venen wurden dabei stets vom gleichen Operateur entnommen. Alle Bypassoperationen wurden ebenfalls vom selben Herzchirurgen durchgeführt. Ein bis zwei Zentimeter der entnommenen und präparierten Venen wurden dann anschließend histologisch auf das Vorliegen und den Ausprägungsgrades einer Fibroelastose untersucht.

Bei beiden Patientengruppen wurden Blutabnahmen durchgeführt, wobei die Myokardmarker Kreatinkinase (CK), Kreatinkinase-Fraktion MB (CK-MB), Kreatininmasse (CK-Masse), sowie Troponin I (TropI), die Entzündungsmediatoren Interleukin 6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNFa), sowie als Leukozytenadhäsionsmarker die Fluorescein-Isothiocyanate markierten monoklonalen Antikörper IB4 und D200, die spezifisch an $\beta 2$ Ketten des humanen Integrins (CD 18) bzw. L-Selectins (CD 62 L) binden, zu den Zeitpunkten vor Beginn der Operation, vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation (EKZ), nach Beendigung der EKZ, 24 Stunden postoperativ, sowie (ausser IB4 und D200) 48 Stunden postoperativ.

Hinsichtlich der Myokardmarker bestanden bei den Patienten beider Studiengruppen keine signifikanten Unterschiede. Die bestimmten Entzündungsmediatoren sowie die Leukozytenadhäsionsmarker wiesen ebenfalls keine statistisch und klinisch signifikanten Unterschiede auf, außer der Tatsache, dass bei Patienten, bei denen die Venenbypässe in Perfadexlösung inkubiert wurden, 24 Stunden postoperativ höhere Interleukin-6 Werte gemessen wurden, im Vergleich zu bei Patienten, deren Venenbypässe mit Bretschneider'scher Lösung inkubiert worden waren.

Bezüglich der pathologischen Untersuchung der Venenbypasspräparate konnte festgestellt werden, dass diejenigen Venenbypässe, die in Perfadexlösung inkubiert worden waren, ähnliche histologische Veränderungen in Form einer Fibroelastose aufwiesen, als dies bei Venenbypässen der Fall war, die zuvor in Bretschneider'scher Lösung inkubiert worden waren und dies obwohl diejenigen Venenbypässe, die in Perfadexlösung inkubiert worden waren, eine um durchschnittlich 14 Minuten längere extrakorporale Bypasszeit, 16 Minuten längere Abklemmzeit der Aorta, sowie eine um 39 Minuten längere Lagerzeit zu verzeichnen hatten.

Die gewebliche Entwicklung einer Fibroelastose im Rahmen der Venenkonservierung wurde in der Literatur bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht beschrieben und bedarf weiterer Studien, um deren pathophysiologische Bedeutung bezüglich Venenbypässen weiter charakterisieren und untersuchen zu können.

6. Literaturverzeichnis

Akins CW, Daggett WM, Vlahakes GJ, Hilgenberg AD, Torchiana DF, Madsen JC et al. Cardiac operations in patients 80 years old and older. *Ann Thorac Surg* 1997;64: 606–614.

Brandes H, Heinemann MK, Scheule A, Wahlers T, Albes JM. Potassium-reduced lung preservation solutions: a screening study. *Eur Surg Res.* 1997;29(5): 327-338.

Albes JM, Fischer F, Bando T, Heinemann MK, Scheule A, Wahlers T. Influence of the perfusate temperature on lung preservation: is there an optimum? *Eur Surg Res.* 1997;29(1): 5-11.

Alderman EL, Corley SD, Fisher LD, Chaitman BR, Faxon DP, Foster ED, Killip T, Sosa JA, Bourassa MG. Five-year angiographic follow-up of factors associated with progression of coronary artery disease in the Coronary Artery Surgery Study (CASS). CASS Participating Investigators and Staff. *J Am Coll Cardiol.* 1993 Oct;22(4): 1141-1154.

Alexander KP, Anstrom KJ, Muhlbaier LH, Grosswald RD, Smith PK, Jones RH et al. Outcomes of cardiac surgery in patients \geq 80 years: results from the National Cardiovascular Network. *J Am Coll Cardiol* 2000;35: 731–738.

Al-Ruzzeh S, George S, Yacoub M, Amrani M. The clinical outcome of off-pump coronary artery bypass surgery in the elderly patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20: 1152–1156.

American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics. 2008 Update. <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=3000090>

APPROACH study. Survival after coronary revascularization in the elderly. *Circulation* 2002;105: 2378–2384.

Asai K, Kudej RK, Shen YT, et al. Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20: 1493-1499.

Bakaeen FG, Dhaliwal AS, Chu D, Bozkurt B, Tsai P, LeMaire SA, Wall MJ Jr, Coselli JS, Huh J. Does the level of experience of residents affect outcomes of coronary artery bypass surgery? *Ann Thorac Surg*. 2009 Apr;87(4): 1127-33; discussion 1133-4.

Bando T, Albes JM, Nüsse T, Wada H, Hitomi S, Wahlers T, Schäfers H. Comparison of euro-collins solution, low-potassium dextran solution containing glucose, and ET-kyoto solution for lung preservation in an extracorporeal rat lung perfusion model. *Eur Surg Res*. 1998;30(5): 297-304.

Bao X, Lu C, Frangos JA. Temporal Gradient in Shear but Not Steady Shear Stress Induces PDGF-A and MCP-1 Expression in Endothelial Cells: Role of NO, NFkB, and egr-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19: 996-1003.

Bao X, Lu C, Frangos JA. Mechanism of temporal gradients in shear-induced ERK1/2 activation and proliferation in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281: 22-29.

Barnett SD, Halpin LS, Speir AM, Albus RA, Akl BF, Massimiano PS et al. Postoperative complications among octogenarians after cardiovascular surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;76: 726–731.

Beauford RB, Goldstein DJ, Sardari FF, Karanam R, Luk B, Prendergast TW et al. Multivessel off-pump revascularization in octogenarians: early and midterm outcomes. *Ann Thorac Surg* 2003;76: 12–17.

Bergqvist D, Bergentz SE. The role of dextran in severe ischemic extremity disease and arterial reconstructive surgery. A review. *Vasa* 1983;12: 213-218.

Bourassa MG. Fate of venous grafts: the past, the present and the future. *J Am Coll Cardiol*. 1991 Apr;17(5): 1081-1083.

Boyle EM Jr, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: ischemia-reperfusion. *Ann Thorac Surg*. 1996 Dec; 62(6): 1868-1875.

Boyle EM Jr, , Spiess BD. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the procoagulant response. *Ann Thorac Surg*. 1996 Nov;62(5): 1549-1557.

Boyle EM Jr, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg*. 1997 Jan;63(1): 277-284.

Bruckenberg, E. Herzbericht 2001. www.herzbericht.de

Bruckenberg, E. Herzbericht 2007. www.herzbericht.de

Bryan AJ, Angelini GD. The biology of saphenous vein graft occlusion: etiology and strategies for prevention. *Curr Opin Cardiol*. 1994 Nov;9(6): 641-649.

Budrikis A, Bolys R, Liao Q, Ingemansson R, Sjoberg T, Steen S. Function of adult pig hearts after 2 and 12 hours of cold cardioplegic preservation. *Ann Thorac Surg* 1998;66: 73-78.

Budrikis A, Liao Q, Bolys R, Westerlaken B, Steen S. Effects of cardioplegic flushing, storage, and reperfusion on coronary circulation in the pig. *Ann Thorac Surg* 1999;67: 1345-1349.

Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1993 Feb;55(2): 552-559.

Campeau L, Enjalbert M, Lespérance J, Bourassa MG, Kwiterovich P Jr, Wacholder S, Sniderman A. The relation of risk factors to the development of atherosclerosis in saphenous-vein bypass grafts and the progression of disease in the native circulation. A study 10 years after aortocoronary bypass surgery. *N Engl J Med*. 1984 Nov 22;311(21): 1329-1332.

Carbognani P, Rusca M, Solli P, et al. Pneumocytes type II ultrastructural modifications after storage in preservation solutions for transplantation. *Eur Surg Res* 1997;29: 319-326.

Chello M, Mastroorberto P, Frati G et al. Pressure distension stimulates the expression of endothelial adhesion molecules in the human saphenous vein graft. *Ann Thorac Surg* 2003;76:453-458.

Christenson JT, Schmutziger M. Sequential Venous Bypass Grafts: Results 10 Years Later. *Ann Thorac Surg* 1997;63:371-376.

Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998;91: 3527-3561.

Collins SM, Brorsson B, Svenmarker S, Kling PA, Aberg T. Medium-term survival and quality of life of Swedish octogenarians after open-heart surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;22: 794–801.

Craver JM, Puskas JD, Weintraub WW, Shen Y, Guyton RA, Gott JP et al. 601 octogenarians undergoing cardiac surgery: outcome and comparison with younger age groups. *Ann Thorac Surg* 1999;67: 1104–1110.

Deedwania, PC, Carbajal, EV. Silent myocardial ischemia — a clinical perspective. *Arch Intern Med* 1991; 151:2373.

Demaria R, Carrier M, Fortier S et al. Reduced mortality and strokes with off-pump coronary artery bypass grafting surgery in octogenarians. *Circulation* 2002;106: I5–I10.

Diegeler A, Autschbach R, Falk V, Walther T, Gummert J, Mohr FW et al. Open heart surgery in the octogenarians – a study on long-term survival and quality of life. *Thorac Cardiovasc Surg* 1995;43: 265–270.

Dietz R, Rauch B. Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung (DGK). *Z Kardiol* 2003;92:501–521.

Dilley RJ, McGeachie JK, Tennant M. The role of cell proliferation and migration in the development of a neo-intimal layer in veins grafted into arteries, in rats. *Cell Tissue Res*. 1992 Aug;269(2): 281-287.

Dilley RJ, McGeachie JK, Tennant M. Vein to artery grafts: a morphological and histochemical study of the histogenesis of intimal hyperplasia. *Aust N Z J Surg*. 1992 Apr;62(4): 297-303.

Ehsan A, Mann MJ, Dell'Acqua G, et al. Endothelial healing in vein grafts. Proliferative burst unimpaired by genetic therapy of neointimal disease. *Circulation* 2002;105: 1686-1692.

Engoren M, Arslanian-Engoren C, Steckel D, Neihardt J, Fenn-Buderer N. Cost, outcome, and functional status in octogenarians and septuagenarians after cardiac surgery. *Chest* 2002;122: 1309–1315.

Fabbrocini M, Fattouch K, Camporini G, DeMicheli G, Bertucci C, Cioffi P, Mercogliano D. The descending branch of lateral femoral circumflex artery in arterial CABG: early and midterm results. *Ann Thorac Surg* 2003;75:1836-1841.

Fischer S, Matte-Martyn A, De Perrot M, et al. Low-potassium dextran preservation solution improves lung function after human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;121: 594-596.

Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Sep;28(3): 616-626.

Fruitman DS, MacDougall CE, Ross DB. Cardiac surgery in octogenarians: can elderly patients benefit? Quality of life after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1999;68: 2129–2135.

Fuster V, Chesebro JJ. Aortocoronary artery vein-graft disease: experimental and clinical approach for the understanding of the role of platelets and platelet inhibitors. *Circulation*. 1985 Dec;72(6 Pt 2): V65-70.

Gertz SD, Marshall LR, Nelson E. Endothelial cell ischemic injury: protective effect of heparin or aspirin assessed by scanning electron microscopy. *Stroke* 1975;6: 357-360.

Goldsmith IR, Lip GY, Patel RL. A prospective study of changes in patients' quality of life after aortic valve replacement. *J Heart Valve Dis* 2001;10: 346–353.

Gottlieb, SO, Weisfeldt, ML, Ouyant, P, et al. Silent ischemia as a marker for early unfavorable outcomes in patients with unstable angina. *N Engl J Med* 1986; 314:1214.

Gottlieb, SO, Gottlieb, SH, Achuff, SC, et al. Silent ischemia on Holter monitoring predicts mortality in high-risk postinfarction patients. *JAMA* 1988; 259:1030.

Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003;108:1912. Part II.: animal and human studies. *Circulation* 2003;108: 2034.

Grondin CM, Campeau L, Lespérance J, Enjalbert M, Bourassa MG. Comparison of late changes in internal mammary artery and saphenous vein grafts in two consecutive series of patients 10 years after operation. *Circulation*. 1984 Sep;70(3 Pt 2): 1208-212.

Grondin CM, Campeau L, Thornton JC, Engle JC, Cross FS, Schreiber H. Coronary artery bypass grafting with saphenous vein. *Circulation*. 1989 Jun; 79(6 Pt 2): 124-29.

Hannan E.L., Burke J. Effect of age on mortality in coronary artery bypass surgery in New York 1991–1992. *Am Heart J* 1994; 128: 1184–1191.

Haruguchi H, Teraoka S. Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and arteriovenous grafts: a review. *J Artif Organs* 2003; 6: 227-235.

Hausen B, Beuke M, Schroeder F, Poets CF, et al. In vivo measurement of lung preservation solution efficacy: comparison of LPD, UW, EC and low K⁺-EC following short and extended ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997; 12(5): 771-779.

Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348: 593-600.

Ho AS, Moore KW. Interleukin-10 and its receptor. *Ther Immunol*. 1994 Jun; 1(3): 173-185.

Howson CP, Reddy KS, Ryan TJ, et al. Control of cardiovascular diseases in developing countries: Research, Development and Institutional strengthening. Committee on Research, Development and Institutional strengthening for control of cardiovascular diseases in developing countries, Board on International health, Institute of Medicine. Washington DC: National Academy Press; 1998.

Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells. Mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23: 1185-1189.

Huss R. Isolation of primary and immortalized CD34⁺ hematopoietic and mesenchymal stem cells from various sources. *Stem Cells* 2000;18: 1-9.

Ingemansson R, Sjöberg T, Massa G, Steen S. Long-term preservation of vascular endothelium and smooth muscle. *Ann Thorac Surg* 1995a;59: 1177-1181.

Ingemansson R, Massa G, Pandita RK, Sjöberg T, Steen S. Perfadex is superior to Euro-Collins solution regarding 24-hour preservation of vascular function. *Ann Thorac Surg* 1995b;60: 1210-1214.

Ingemansson R, Budrikis A, Bolys R, Sjøberg T, Steen S. Effect of temperature in long-term preservation of vascular endothelial and smooth muscle function. *Ann Thorac Surg* 1996a;61:1413-1417.

Ingemansson R, Sjøberg T, Steen S. Importance of calcium in long-term preservation of the vasculature. *Ann Thorac Surg* 1996b;61: 1158-1162.

Ingemansson R, Bolys R, Budrikis A, Lindgren A, Sjøberg T, Steen S. Addition of calcium to Euro-Collins solution is essential for 24-hour preservation of the vasculature. *Ann Thorac Surg*.1997a;63: 408-413.

Ingemansson R, Budrikis A, Bolys R, Sjøberg T, Steen S. Effect of flush-perfusion on vascular endothelial and smooth muscle function. *Ann Thorac Surg* 1997b;64: 1075-1081.

Ivanov J, Weisel RD, David TE, Naylor CD. Fifteen-year trends in risk severity and operative mortality in elderly patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1998;97: 673–680.

Javaid A, Steinberg DH, Buch AN, Corso PJ, Boyce SW, Pinto Slottow TL, Roy PK, Hill P, Okabe T, Torguson R, Smith KA, Xue Z, Gevorkian N, Suddath WO, Kent KM, Satler LF, Pichard AD, Waksman R. Outcomes of coronary artery bypass grafting versus percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents for patients with multivessel coronary artery disease. *Circulation*. 2007 Sep 11;116(11 Suppl):I200-6.

Kaiser C, Kuster GM, Erne P, Amann W, Naegeli B, Osswald S et al. Risks and benefits of optimised medical and revascularisation therapy in elderly patients with angina-on-treatment analysis of the TIME trial. *Eur Heart J* 2004;25: 1036–1042.

Kelly RF, Murar J, Hong Z, Nelson DP, Hong F, Varghese A, et al. Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production. *Ann Thorac Surg* 2003;75: 1705-1710.

Keshavjee SH, Yamazaki F, Yokimise H, Cardoso PF, Mullen JB, Slutsky AS, Patterson GA. The role of dextran 40 and potassium in extended hypothermic lung preservation for transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103: 314-324.

Kimblad PO, Sjøberg T, Massa G, Solem JO, Steen S. High potassium contents in organ preservation solutions cause strong pulmonary vasocontraction. *Ann Thorac Surg* 1991;52: 523-528.

Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1983 Dec;86(6): 845-857.

Kirsch M, Guesnier L, LeBesnerais P, Hillion ML, Debauchez M, Seguin J et al. Cardiac operations in octogenarians: perioperative risk factors for death and impaired autonomy. *Ann Thorac Surg* 1998;66: 60–67.

Khot UN, Friedman DT, Pettersson G, Smedira NG, Li J, Ellis SG. Radial artery bypass grafts have an increased occurrence of angiographically severe stenosis and occlusion compared with left internal mammary arteries and saphenous vein grafts. *Circulation*. 2004 May 4;109(17): 2086-91.

Kon ZN, White C, Kwon MH, Judy J, Brown EN, Gu J, Burris NS, Laird PC, Brown T, Brazio PS, Gammie J, Brown J, Griffith BP, Poston RS. The role of preexisting pathology in the development of neointimal hyperplasia in coronary artery bypass grafts. *J Surg Res*. 2007 Oct;142(2):351-6. Epub 2007 Jul 12.

Kuchan MJ, Frangos JA. Shear stress regulates endothelin-1 release via protein kinase C and cGMP in cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1993;264(1 Pt 2): 150-156.

Kurlansky PA, Williams DB, Traad EA, Carrillo RG, Schor JS., Zucker M et al. Arterial grafting results in reduced operative mortality and enhanced long-term quality of life in octogenarians. *Ann Thorac Surg* 2003;76: 418–426.

Lamm P, Juchem G, Milz S, Reichart B. Continuous graft perfusion: optimizing the quality of saphenous vein grafts. *Heart Surg Forum*. 2002;5 Suppl 4: 355-361.

Laufs U, la Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998;97: 1129-1135.

Lawrie GM. Invited Letter concerning: Endothelial preservation in humane saphenous veins. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1990. 100: 149-150.

Lee MS, Makkar RR. Stem-cell transplantation in myocardial infarction: a status report. *Ann Intern Med* 2004;140: 729-737.

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*; 2002;105: 1135.

Libby P. Vascular biology of atherosclerosis: overview an state of the art. *Am J Cardiol* 2003; 91(3A): 3A.

Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420: 868.

Massa G, Ingemansson R, Sjoberg T, Steen S. Endothelium-dependent relaxation after short-term preservation of vascular grafts. *Ann Thorac Surg* 1994;58: 1117-1122.

Menger MD, Thierjung C, Hammersen F, Messmer K. Dextran vs. hydroxyethylstarch in inhibition of postischemic leukocyte adherence in striated muscle. *Circ Shock* 1993;41: 248-255.

Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1993;7(11): 563-573.

Mohan S, Mohan N, Valente AJ, Sprague E. Regulation of low shear flow-induced HAEC VCAM-1 expression and monocyte adhesion. *Am J Physiol* 2003;276: C1100-C1107.

Moon MR, Sundt TM 3rd, Pasque MK, Barner HB, Gay WA. Jr, Damiano RJ Jr. Influence of internal mammary artery grafting and completeness of revascularization on long-term outcome in octogenarians. *Ann Thorac Surg* 2001;72: 2003–2007.

Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol*. 1993;11: 165-190.

Morris RJ, Strong MD, Grunewald KE, Kuretu ML, Samuels LE, Kresh JY et al. Internal thoracic artery for coronary artery grafting in octogenarians. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 16–22.

Motwani JG, Topol EJ. Aortocoronary saphenous vein graft disease. Pathogenesis, predisposition, and prevention. *Circulation* 1998;97: 916-931.

Müller C, Fürst H, Reichenspurner H, Briegel J, Groh J, Reichart B. Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation* 1999;68(8): 1139-1143.

Nill CGS, Winkler KM, Bimmel DW, Mellert F, Ashraf OM, Schmitz C, Bauriedel G, Welz A: Einfluss der Aufbewahrungslösung auf die Entstehung der Vaskulopathie von aortokoronaren Venenbypässen – Detektion durch Apoptose. 31. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie. 2002.

Nolte D, Lehr HA, Messmer K. Dextran and adenosine-coupled dextran reduce postischemic leukocyte adherence in postcapillary venules of the hamster. In: Messmer K 8ed): Capillary function and white cell interaction. Prog Appl Microcirc. Basel, Karger, 1991, 18: 103-111.

Olsson M, Janfjäll H, Orth-Gomer K, Uden A, Rosenqvist M. Quality of life in octogenarians after valve replacement due to aortic stenosis. A prospective comparison with younger patients. Eur Heart J 1996;17: 583–589.

Ouriel K. Peripheral arterial disease. Lancet 2001;358: 1257-1264.

Pfisterer M, Buser P, Osswald S, Allemann U, Amann W, Angehrn W et al. Outcome of elderly patients with chronic symptomatic coronary artery disease with an invasive vs optimized medical treatment strategy: one-year results of the randomized TIME trial. JAMA 2003;289: 1117–1123.

Predel HG, Yang Z, von Segesser L, Turina M, Bühler FR, Lüscher TF. Implications of pulsatile stretch on growth of saphenous vein and mammary artery smooth muscle. Lancet 1992; 340: 878-879.

Rabanal JM, Ibanez AM, Mons R, et al. Influence of preservation solution on early lung function (Euro-Collins vs Perfadex). Transplant Proc 2003;35: 1938-1939.

Rodés-Cabau J, Facta A, Larose E, DeLarochellière R, Déry JP, Nguyen CM, Roy L, Proulx G, Gleeton O, Barbeau G, Noël B, Rouleau J, Boudreault

JR, Bertrand OF. Predictors of aorto-saphenous vein bypass narrowing late after coronary artery bypass grafting. *Am J Cardiol*. 2007 Aug 15;100(4): 640-5. Epub 2007 Jun 27.

Rössig L, Dimmeler S, Zeiher AM. Apoptosis in the vascular wall and atherosclerosis. *Basic Res Cardiol* 2001;96: 11-22.

Rosenzweig A. Endothelial progenitor cells. *N Engl J Med* 2003;348: 581-582.

Royston D, Fleming JS, Desai JB, Westaby S, Taylor KM. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations. Evidence for free radical generation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986 May;91(5): 759-766.

Sakamaki F, Hoffmann H, Müller C, Dienemann H, Messmer K, Schildberg FW. Reduced lipid peroxidation and ischemia-reperfusion injury after lung transplantation using low-potassium dextran solution for lung preservation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(4 Pt 1): 1073-1081.

Sata M, Nagai R. Inflammation, angiogenesis, and endothelial progenitor cells: how do endothelial progenitor cells find their place? *J Molec Cell Cardiol* 2004;36: 459-463.

Schäffer U, Tanner B, Strohschneider T, Stadtmüller A, Hannekum A. Damage to arterial and venous endothelial cells in bypass grafts induced by several solutions used in bypass surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1997 Aug; 45(4):168-171.

Scheubel RJ, Zorn H, Silber RE et al. Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol* 2003;42: 2073-2080.

Schwann TA, Zacharias A, Riordan CJ, Durham SJ, Shah AS, Habib RH. Sequential radial artery grafts for multivessel coronary artery bypass graft surgery: 10-year survival and angiography results. *Ann Thorac Surg*. 2009 Jul; 88(1):31-9.

Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, Faymonville ML, Messmer BJ, Buro-Rathsmann K, von Bernuth G. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children. Relation to postoperative multiple system organ failure. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993 Dec;106(6): 978-987.

Sellke FW, Boyle EM Jr, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the pathophysiology of vasomotor dysfunction. *Ann Thorac Surg*. 1996 Oct;62(4): 1222-1228.

Serruys PW, Morice MC, Kappetein AP, Colombo A, Holmes DR, Mack MJ, Ståhle E, Feldman TE, van den Brand M, Bass EJ, Van Dyck N, Leadley K, Dawkins KD, Mohr FW; SYNTAX Investigators. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2009 Mar 5;360(10):961-72. Epub 2009 Feb 18.

Shirota T, Yasui H, Matsuda T. Intraluminal tissue-engineered therapeutic stent using endothelial progenitor cell-inoculated hybrid tissue and in vitro performances. *Tissue Eng* 2003a;9: 473-485.

Shirota T, Yasui H, Shomokawa H, Matsuda T. Fabrication of endothelial progenitor cell (EPC)-seeded intravascular stent devices and in vitro endothelialization on hybrid vascular tissue. *Biomaterials* 2003b;24(13): 2295-2302.

Sjöberg T, Massa G, Steen S. Endothelium-mediated relaxation in transplanted aorta. *Ann Thorac Surg* 1992;53: 1068-1073.

Sohn HY, Keller M, Gloe T, Morawietz H, Rueckschloss U, Pohl U. The small G-protein Rac mediates depolarization induced superoxide formation in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2000;275: 18745-18750.

Souza DS, Dashwood MR, Tsui JC, Filbey D, Bodin L, Johansson B, Borowiec J. Improved patency in vein grafts harvested with surrounding tissue: results of a randomized study using three harvesting techniques. *Ann Thorac Surg*. 2002 Apr;73(4): 1189-1195.

Spaggiari L, Bobbio P. Dextran 40 at 2% versus 5% in low-potassium solutions: which is best? *Ann Thorac Surg*. 1994 Feb;57(2): 450-457.

Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*. 1990 Aug 2;346(6283): 425-434.

Steen S, Kimblad PO, Sjöberg T, Lindberg L, Ingemansson R, Massa G. Safe lung preservation for twenty-four hours with Perfadex. *Ann Thorac Surg* 1994;57: 450-457.

Steen S. Preservation of the endothelium in cardiovascular surgery - some practical suggestions - a review. *Scand Cardiovasc J* 2001;35: 297-301.

Stefano GB, Christensen VB, Tonnesen E, Liu Y, Hughes TK Jr, Bilfinger TV. Interleukin-10 stimulation of endogenous nitric oxide release from human saphenous veins diminishes immunocyte adherence. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1997 Jul;30(1): 90-95.

Steinbauer M, Harris A, Hoffmann T, Messmer K. Pharmacological effects of dextrans on the postischemic leukocyte-endothelial interaction. In: Messmer K (ed): *Progress in applied microcirculation. Compromised perfusion*. Basel, Karger, 1996;22: 114-125.

Steinbauer M, Harris A, Messmer K. Effects of dextran on microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle. *Am J Physiol* 1997;272: H1710-1716.

Strüber M, Hohlfeld JM, Fraund S, Kim P, Warnecke G, Haverich A. Low-potassium dextran solution ameliorates reperfusion injury of the lung and protects surfactant function. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2000 Sep;120(3): 566-572.

Strüber M, Wilhelmi M, Harringer W, Niedermeyer J, Anssar M, Kunsebeck A, et al. Flush perfusion with low potassium dextran solution improves early graft function in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19: 190-194.

Sundt TM, Bailey MS, Moon MR, Mendeloff EN, Huddleston CB, Pasque MK et al. Quality of life after aortic valve replacement at the age of >80 years. *Circulation* 2000;102: 70–174.

Szmitko PE, et al. New markers of inflammation and endothelial activation. Part I. *Circulation* 2003a;108: 1917.

Szmitko PE, et al. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation. Part II. *Circulation* 2003b;108: 2041.

Tarantini G, Ramondo A, Napodano M, Favaretto E, Gardin A, Bilato C, Nesseris G, Tarzia V, Cademartiri F, Gerosa G, Iliceto S. PCI versus CABG for multivessel coronary disease in diabetics. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2009 Jan 1;73(1):50-8.

Termeer CC, Weiss JM, Schopf E, Vanscheidt W, Simon JC. The low molecular weight Dextran 40 inhibits the adhesion of T lymphocytes to endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 1998;114: 422-426.

Thatte HS, Khuri SF. The coronary artery bypass conduit: I. Intraoperative endothelial injury and its implication on graft patency. *Ann Thorac Surg* 2001;72: 2245-2252.

Thatte HS, Biswas KS, Najjar SF, et al. Multi-photon microscopic evaluation of saphenous vein endothelium and its preservation with a new solution, GALA. *Ann Thorac Surg* 2003;75: 1145-1152.

TIME. Trial of invasive versus medical therapy in elderly patients with chronic symptomatic coronary artery disease (TIME): a randomized trial. *Lancet* 2001;358: 951–957.

Tomas J, Stark VE, Kim JL et al. Beta-galactosidase-tagged adventitial myofibroblasts tracked to the neointima in healing rat vein grafts. *J Vasc Res* 2003;40: 266-276.

Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Toutouzas P, Ambrose JA. Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart* 2003;89: 993.

Tricot O, Mallat Z, Heymes C, Belmin J, Lesèche G, Tedgui A. Relation between endothelial cell apoptosis and blood flow direction in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 2000;101: 2450-2453.

Tzivoni, D, Gavish, A, Zin, D, et al. Prognostic significance of ischemic episodes in patients with previous myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988; 62:661.

Uyemura K, Demer LL, Castle SC, Jullien D, Berliner JA, Gately MK, Warrier RR, Pham N, Fogelman AM, Modlin RL. Cross-regulatory roles of interleukin (IL)-12 and IL-10 in atherosclerosis. *J Clin Invest.* 1996 May 1;97(9): 2130-2138.

Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001a;89: e1-e7.

Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001b;103: 2885-2890.

Verma S, Kuliszewski MA, Li SH et al. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function. *Circulation* 2004;109: r91-r100.

Verrier E. The microvascular cell and ischemia-reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996;27 Suppl 1: 26-30.

Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization. A novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation* 2002;105: 3017-3024.

Welz A, Stadtmüller A, Schäffer U, Strohschneider T, Hannekum A. Cytotoxicity of various crystalloid solutions to the endothelial cells of autologous grafts. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1991 Dec;39 Suppl 3: 236-240.

White AJ, Kedia G, Mirocha JM, Lee MS, Forrester JS, Morales WC, Dohad S, Kar S, Czer LS, Fontana GP, Trento A, Shah PK, Makkar RR. Comparison of coronary artery bypass surgery and percutaneous drug-eluting stent im-

plantation for treatment of left main coronary artery stenosis. *JACC Cardiovasc Interv.* 2008 Jun;1(3):236-45.

Wittwer T, Wahlers T, Fehrenbach A, Elki S, Haverich A. Improvement of pulmonary preservation with Celsior and Perfadex: impact of storage time on early post-ischemic lung function. *J Heart Lung Transplant.* 1999 Dec;18(12): 1198-1201.

Wittwer T, Fehrenbach A, Meyer D, Brandes H, Albes J, Richter J, Wahlers T. Retrograde flush perfusion with low-potassium solutions for improvement of experimental pulmonary preservation. *J Heart Lung Transplant.* 2000 Oct; 19(10): 976-983.

Xu Q, Zhang Z, Davison F, Hu Y. Circulating progenitor cells regenerate endothelium of vein graft atherosclerosis, which is diminished in ApoE-deficient mice. *Circ Res* 2003;93: e76-e86.

Xu Y, Arai H, Zhuge X et al. Role of bone marrow-derived progenitor cells in cuff-induced vascular injury in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24: 477-482.

Yin Y, Que J, Teh M, et al. Embryonic cell lines with endothelial potential: an in vitro system for studying endothelial differentiation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24: 691-696.

Zerkowski HR, Knocks M, Konerding MA, Doetsch N, Roth G, Hakim K, Reidemeister JC. Endothelial damage of the venous graft in CABG. Influence of solutions used for storage and rinsing on endothelial function. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993;7(7): 376-382.

Zhang L, Freedman NJ, Brian L, Peppel K. Graft-extrinsic cells predominate in vein graft arterialization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24: 470-476.

Zilla P, von Oppell U, Deutsch M. The endothelium: A key to future. J Card Surg 1993;8: 32-50.

Zwolak RM, Adams MC, Clowes AW. Kinetics of vein graft hyperplasia: association with tangential stress. J Vasc Surg 1987; 5: 126-136.

7. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Grafischer Vergleich der Mediane der Kreatinkinase (CK) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Units pro Liter.....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 2: Grafischer Vergleich der Mediane der Kreatinkinase-Untereinheit MB (CK-MB) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Prozent.....</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 3: Grafischer Vergleich der Mediane der Kreatinkinase-Masse (CK-Masse) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Milligramm pro Liter.....</i>	<i>33</i>
<i>Abbildung 4: Grafischer Vergleich der Mediane des Troponin I (TropI) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Mikrogramm pro Liter.....</i>	<i>34</i>
<i>Abbildung 5: Grafischer Vergleich der Mediane des Interleukin-6 (IL-6) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Units pro Milliliter.....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 6: Grafischer Vergleich der Mediane des Tumor-Nekrose-Faktors alpha (TNFa) der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Nanogramm pro Milliliter.....</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 7: Grafischer Vergleich der Mediane des monoklonalen Antikörpers IB4 der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Mikrogramm pro Milliliter.....</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 8: Grafischer Vergleich der Mediane des monoklonalen Antikörpers D200 der Perfadexgruppe und der Kontrollgruppe. Alle Werte beziehen sich auf Mikrogramm pro Milliliter.....</i>	<i>42</i>

8. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Demographische Aufteilung, kardiovaskuläres Risikoprofil, Begleiterkrankungen.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabelle 2: Chemische Zusammensetzung von 1000 ml Perfadexlösung.....</i>	<i>24</i>
<i>Tabelle 3: Chemische Zusammensetzung von 1000 ml HTK-Bretschneider'scher Lösung.....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 4: Versuchstechnische Bestimmung von IB4 und D200.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 5: Mediane und Standardabweichungen der Kreatinkinase in Units pro Liter zu den Zeitpunkten T1 bis T5.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 6: Mediane und Standardabweichungen des Interleukin-6 in Units pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T5.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 7: Mediane und Standardabweichungen des Tumor-Nekrose-Faktors-alpha in Nanogramm pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T5.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 8: Mediane und Standardabweichungen des monoklonalen Antikörpers IB4 in Mikrogramm pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T4.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 9: Mediane und Standardabweichungen des monoklonalen Antikörpers D200 in Mikrogramm pro Milliliter zu den Zeitpunkten T1 bis T4.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabelle 10: Mediane und Standardabweichungen der extrakorporalen Bypasszeit und der Abklemmzeit der Aorta in Minuten.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabelle 11: Mediane, inklusive Standardabweichung der Lagerzeit der entnommenen Venenbypässe, sowie des histologischen Ausprägungsgrades einer Fibroelastose.....</i>	<i>44</i>

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Reichart, Direktor emeritus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik München Großhadern, sei für seine Unterstützung und Förderung während seiner Amtszeit zur Fertigstellung dieser Arbeit besonders gedankt.

Mein Dank gilt meinem initialen Betreuer Herrn Professor Dr. med. Christ, Leiter der Herzanästhesie, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin der LMU München und insbesondere Frau PD Dr. med. Eifert, Oberärztin der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik München, die diese Arbeit ermöglichten und mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen.

Zudem danke ich Herrn Dr. med. Weigand und Frau Köppel vom Institut für klinische Chemie

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Chouker und seinem Team

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. med. Diebold und Prof. Dr. med. Kirchner für die erfolgreiche und freundliche Zusammenarbeit im Bereich der pathologischen Untersuchungen

Ohne die tatkräftige Hilfe der Mitarbeiter, der im herzchirurgischen OP und der Station G3 sowie H3a des Klinikums Großhadern wäre der Aufwand dieser Arbeit beträchtlich größer geworden, auch ihnen gilt mein größter Dank.

Zudem fühle ich mich allen Kollegen verpflichtet, die die von mir untersuchten Patienten weiterbetreuten und mir eventuelle Nachuntersuchungen zur Einsicht und Auswertung weiterleiteten.

Meiner Frau Sonja Kronschnabl gilt höchster Dank für die tägliche Motivation und Unterstützung. Danke für Deinen Respekt und Deine Geduld.